



UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA

LABORATORIO DE PARASITOLOGÍA

*Giardia y Cryptosporidium en fauna salvaje de Galicia*

**MEMORIA** que para optar al Grado de Doctora por la  
Universidad de Santiago de Compostela presenta

**Aurora Reboredo Fernández**

**Santiago de Compostela, 2016**



Elvira Ares Mazás e Hipólito Gómez Couso, Catedrática y Profesor Contratado Doctor, respectivamente, del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Universidad de Santiago de Compostela,

**INFORMAN:**

Que el trabajo de investigación titulado ***“Giardia y Cryptosporidium en fauna salvaje de Galicia”***, que presenta la Licenciada en Biología **Dña. Aurora Reboredo Fernández** para optar al Grado de Doctora por esta Universidad, ha sido realizado en el Departamento de Microbiología y Parasitología bajo nuestra dirección y, considerando que se haya concluido, autorizamos su presentación para que pueda ser juzgado por el Tribunal correspondiente.

En Santiago de Compostela, a 28 de septiembre de 2016.

Dra. Elvira Ares Mazás

Dr. Hipólito Gómez Couso





Fernanda Romarís Martínez, Profesora Titular de Parasitología y Secretaria del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Universidad de Santiago de Compostela,

**CERTIFICA:**

Que el trabajo de investigación titulado ***“Giardia y Cryptosporidium en fauna salvaje de Galicia”***, que presenta la Licenciada en Biología **Dña. Aurora Reboredo Fernández** para optar al Grado de Doctora por esta Universidad, ha sido realizado bajo la dirección de la Dra. Elvira Ares Mazás y del Dr. Hipólito Gómez Couso en el Laboratorio de Parasitología de este Departamento.

Y para que así conste, y a los efectos oportunos expido el presente certificado en Santiago de Compostela, a 28 de septiembre de 2016.

Dra. Fernanda Romarís Martínez





“Produce una inmensa tristeza pensar que la naturaleza habla  
mientras el género humano no la escucha”

VÍCTOR HUGO





*A MANUELA Y ASER*

*¡Siempre estaréis conmigo!*



## AGRADECIMIENTOS

Como es natural, comenzaré dando las gracias a mis “jefes”, a Elvira Ares Mazás y a Hipólito Gómez Couso, por darme la oportunidad de empezar esta etapa que estoy a punto de terminar, por enseñarme lo que saben, por contar siempre conmigo y por hacer que me sintiera en todo momento como si fuésemos compañeros, porque me habéis enriquecido, tanto en el ámbito científico y profesional, como en el personal. Gracias a los dos de corazón, por vuestra confianza, apoyo y ánimos para seguir.

También, me gustaría expresar mi agradecimiento a las personas sin las cuales no hubiera sido posible realizar esta Tesis. Sin la colaboración de los voluntarios y trabajadores de los *Centros de Recuperación de Fauna Salvaxe* de Galicia y de la *Coordinadora para o Estudo dos Mamíferos Mariños* nada de esto sería posible, sin olvidar al resto de la gente que se preocupa por los animales salvajes y que avisa al encontrar a algún animal que necesita ayuda. A todas esas personas, muchas gracias!

Quisiera agradecer también al Dr. Pedro Galán Regalado y a su equipo, la aportación de las muestras de reptiles salvajes que tenían a su disposición y que están incluidas en este estudio. Al Dr. Simone M. Cacciò por el asesoramiento en los estudios de caracterización molecular de los aislados. Igualmente, a Teresa García Bernadal por darnos la oportunidad de disponer de muestras de macroinvertebrados bentónicos, esos “bichos de río” que desde hace tanto tiempo me fascinan y que me hace muy feliz que hayan formado parte, también, de esta etapa de mi vida. Un especial agradecimiento se merece Rafael Romero Suances “Chiño”, gracias por estar siempre disponible y dispuesto a ayudarme y a colaborar conmigo!!

No puedo dejar de lado a mi buena amiga, la Dra. María Lamprecht Grandío, la artista que desinteresadamente dedicó mucho de su valioso tiempo a realizar las ilustraciones de los ciclos biológicos que aparecen en este manuscrito, y que personalizan más este trabajo, gracias por tu maravillosa y exclusiva aportación María!!

Igualmente quisiera dar las gracias al profesorado del Departamento, en especial a la Dra. Teresa Santamarina Fernández, porque sin ella seguro que no estaría en este momento aquí escribiendo estas palabras. Gracias Teresa, mereció

la pena!! A Anabel Vidal Varela, por su preocupación, atención y ejemplo de superación. Mis compañer@s, no éramos ni somos muchos, también se merecen unas palabras de gratitud, por su amabilidad, ayuda y por los buenos momentos compartidos: Merini, Óscar, Chus, Antonio y Rainer (ZipiZape, como alguien les dice) y Seila, en especial esta última, porque es bonito ser detallista y porque su risa siempre ilumina el ambiente que la rodea, contagiándonos al resto. Gracias a tod@s!!

A mi familia le tendré que dar las gracias hoy y siempre, por estar constantemente presente, por su apoyo, sus consejos, su respeto y su ayuda siempre que la necesito. Gracias por enseñarme tantas cosas!! A mi madre, Pilar, y a Candi, a mis hermanos Aser y Ana, a mi prima Paula, y a mis tíos y tías: Antón y Diana, Milu y Fátima y Manolo y Teresa. Manolo, gracias por aquella comida en *A Casa da Viña* (y por muchísimas otras) en la que Teresa y tú me animasteis a llamar a Elvira y empezar con esta Tesis. Gratitud y amor eterno siento por mis abuelos, como os echo de menos!! Y gracias, por supuesto, a mi hermana Eva, por todo, siempre!!

Agradezco enormemente a toda la gente que ha vivido conmigo la realización de esta Tesis Doctoral, que siempre me ha escuchado y me ha dado sus consejos, su apoyo, su ánimo, su comprensión y su cariño. Gracias Xela por iniciar conmigo este camino, siendo un pilar y motivo fundamental por el cual estoy aquí ahora. Gracias sobre todo a mis amigas doctoras Maro, Meri, Paula y Ohiana por ayudarme con su experiencia, y a todas las “amores” que ya sabéis quienes sois (Putxi...tu tambiénnn, Sara...tu “pekeñosaltamontes” también te da las gracias) y a Pili, Mónica, Andrea e Ita (Meri, tú ya estás más arriba) y, en general, a toda las personas que aprecio y quiero, y que pese al tiempo o a la distancia que nos separa, sé con certeza que seguiréis presentes en mi vida, compartiendo experiencias y confidencias enriquecedoras para mi persona. Gracias por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente!!

No puedo dejar de lado a mi gran compañera, Zorza, que siempre está a mi lado, incondicionalmente.





Esta Tesis Doctoral ha sido financiada por el Proyecto de Investigación titulado “Detección y caracterización molecular de *Cryptosporidium* y *Giardia* en fauna salvaje de Galicia”, subvencionado por el Ministerio de Educación y Ciencia (CGL-2007-60656) dentro del Plan Nacional 5 PN - Biodiversidad, Ciencias de la Tierra y Cambio Global, y por la Consellería de Educación y Ordenación Universitaria a través del programa de Ayudas para la Consolidación y Estructuración de Unidades de Investigación Competitivas del Sistema Universitario de Galicia (GPC-2014-069).



## ÍNDICE

Abreviaturas y Acrónimos.....	i
Figuras y Tablas.....	iii
Resumen.....	v
Resumo.....	vii
Abstract.....	ix
<b>Aspectos geográficos y faunísticos de Galicia.....</b>	<b>1</b>
1. El relieve.....	3
2. El clima.....	6
3. La red fluvial.....	7
4. Los suelos y la vegetación.....	7
5. La costa y el medio marino.....	9
6. La fauna.....	10
6.1. Aves y mamíferos.....	11
6.2. Anfibios y reptiles.....	12
6.3. Fauna asociada a los cursos de agua.....	13
6.4. Fauna marina.....	14
6.5. Amenazas y conservación.....	16
<b><i>Giardia y Cryptosporidium.....</i></b>	<b>21</b>
1. <i>Giardia</i> .....	23
1.1. Breve reseña histórica.....	23
1.2. Morfología y biología.....	24
1.3. Especies y genotipos.....	26
2. <i>Cryptosporidium</i> .....	27
2.1. Breve reseña histórica.....	27
2.2. Morfología y biología.....	28
2.3. Especies y genotipos.....	30

3. Giardiosis y cryptosporidiosis .....	33
3.1. En el hombre.....	33
3.2. En animales domésticos y de compañía.....	35
3.3. En fauna salvaje .....	41
3.4. Transmisión de las formas infectantes .....	46
<b>Zoonosis y salud compartida .....</b>	<b>49</b>
1. Las enfermedades emergentes y reemergentes.....	51
2. Un mundo, una salud.....	52
3. Biodiversidad, conservación y zoonosis .....	53
4. El uso de la fauna salvaje como indicadora de salud ambiental .....	56
5. La fauna salvaje, ¿víctima o responsable de la contaminación ambiental por <i>Giardia</i> y <i>Cryptosporidium</i> ? .....	57
<b>Objetivo .....</b>	<b>59</b>
<b>Resumen y copia de las publicaciones.....</b>	<b>63</b>
<b>Discusión general.....</b>	<b>95</b>
<b>Conclusiones.....</b>	<b>115</b>
<b>Bibliografía.....</b>	<b>119</b>
<b>Anexos.....</b>	<b>161</b>

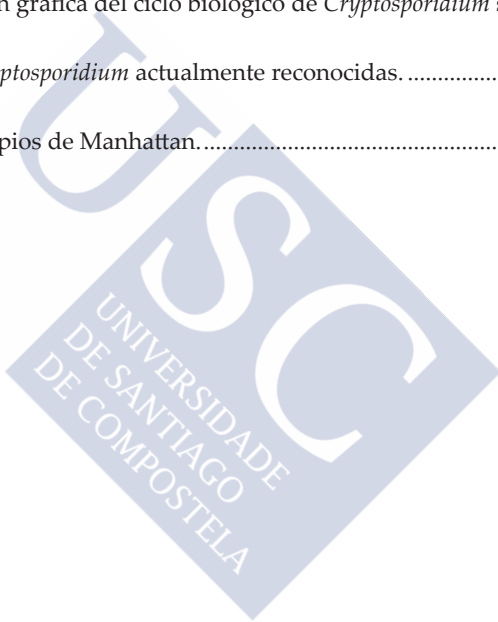
## ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>BOE</b>	Boletín Oficial del Estado
<b>CEMMA</b>	Coordinadora para el Estudio de los Mamíferos Marinos
<b>CRFS</b>	Centros de Recuperación de Fauna Salvaje
<b>DMA</b>	Directiva Marco del Agua
<b>DOG</b>	Diario Oficial de Galicia
<b>FAO</b>	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
<b>GEAS</b>	Grupo de Estudio de los Animales Salvajes
<b>HSP70</b>	Proteína de shock térmico de 70 kDa
<b>ICZN</b>	Comisión Internacional de Nomenclatura Zoológica
<b>IFAT</b>	Test de inmunofluorescencia directa
<b>ITS</b>	Espaciadores transcritos internos
<b>PBS</b>	Tampón fosfato salino
<b>PCR</b>	Reacción en cadena de la polimerasa
<b>SEO</b>	Sociedad Española de Ornitología
<b>SGHN</b>	Sociedad Gallega de Historia Natural
<b>SGO</b>	Sociedad Gallega de Ornitología
<b>SIDA</b>	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida
<b>SSU-rDNA</b>	Gen que codifica la subunidad ribosomal 18S
<b>UNESCO</b>	Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura
<b>VIH</b>	Virus de la inmunodeficiencia humana
<b>ZEC</b>	Zonas de Especial Conservación
<b>ZEPA</b>	Zonas de Especial Protección para las Aves
<b>ZEPVN</b>	Zonas de Especial Protección de los Valores Naturales



## FIGURAS Y TABLAS

Figura 1. Mapa de Galicia mostrando las principales unidades de relieve.....	5
Figura 2. Mapa de Galicia mostrando la profusa red fluvial.....	8
Figura 3. Mapa de Galicia mostrando los espacios protegidos.....	20
Figura 4. Representación gráfica del ciclo biológico de <i>Giardia</i> spp.....	25
Tabla 1. Especies de <i>Giardia</i> y genotipos de <i>G. duodenalis</i> . ....	27
Figura 5. Representación gráfica del ciclo biológico de <i>Cryptosporidium</i> spp. ....	31
Tabla 2. Especies de <i>Cryptosporidium</i> actualmente reconocidas. ....	32
Tabla 3. Los doce Principios de Manhattan.....	54







## RESUMEN

Con el inicio del siglo XXI, el concepto de “Una Salud”, enfocado hacia el estudio conjunto de la salud humana, la sanidad animal y el estado del propio ecosistema, está adquiriendo una gran importancia en el control de las enfermedades infecciosas emergentes/reemergentes y en la prevención del deterioro del medio natural, aspectos ambos esenciales para el bienestar de la humanidad. Generalmente, la fauna salvaje se reconoce como una fuente potencial de infecciones para el hombre, sin embargo su papel en la transmisión zoonótica de algunas enfermedades no está todavía esclarecido. *Giardia* y *Cryptosporidium* son géneros de protozoos parásitos ubicuos que infectan a numerosas especies de vertebrados, incluyendo al hombre, a los animales domésticos y salvajes, aunque en estos últimos la bibliografía existente es limitada. El objetivo de la presente Tesis Doctoral es investigar la presencia de ambos enteropatógenos en fauna salvaje de Galicia, contribuyendo así al conocimiento del impacto biológico que los citados parásitos tienen sobre estos animales. Para ello, se dispuso de 734 muestras correspondientes a 32 comunidades de macroinvertebrados bentónicos, 31 reptiles (7 especies), 433 aves (64 especies), 198 mamíferos marinos (9 especies) y 40 mamíferos terrestres (16 especies). La metodología aplicada incluyó métodos difásicos de concentración de formas parasitarias, una técnica de inmunofluorescencia directa para la detección microscópica de las mismas y estudios de biología molecular basados en la técnica de PCR y posterior secuenciación de fragmentos de los genes que codifican la SSU-rDNA, la  $\beta$ -giardina, la región ITS1-5.8S-ITS2 de *Giardia* y los genes SSU-rDNA y HSP70 de *Cryptosporidium*. Se obtuvieron valores globales de prevalencia de 4,5% y 8,9% para *Giardia* y *Cryptosporidium*, respectivamente, detectándose ambos parásitos en todos los grupos de animales estudiados. Independientemente de la necesidad de confirmar si se trata de verdaderas infecciones o si los animales son meros diseminadores de la contaminación, los resultados obtenidos amplían el número de especies que albergan ambos parásitos, reforzando así la hipótesis de que estos protozoos poseen un amplio rango de hospedadores entre la fauna salvaje. La identificación mayoritaria de los genotipos A y B de *Giardia duodenalis* y la especie *Cryptosporidium parvum*, comunes al hombre, a los animales domésticos y al ganado, en lugar de los genotipos/especies propios de las distintas clases de hospedadores analizados, sugiere que la fuente de infección/contaminación para la fauna salvaje deriva de las actividades antropogénicas. De esta forma, no se puede afirmar que los animales salvajes representen un importante reservorio de la giardiosis y la cryptosporidiosis en Galicia.

**PALABRAS CLAVE:** *Giardia*; *Cryptosporidium*; Fauna salvaje; Macroinvertebrados bentónicos; Galicia; “Salud Compartida”.



## RESUMO

Co comezo do século XXI, o concepto de “Unha Saúde”, enfocado cara o estudo conxunto da saúde humana, da sanidade animal e do estado do ecosistema, está a adquirir unha notable importancia no control das enfermidades infecciosas emerxentes/reemerxentes e na prevención do deterioro do entorno natural, aspectos esenciais para o benestar da humanidade. Polo xeral, a fauna salvaxe está recoñecida como unha fonte potencial das infeccións para o home, non obstante o seu papel na transmisión zoonósica dalgunhas enfermidades non se coñece completamente. *Giardia* e *Cryptosporidium* son xéneros de protozoos parasitos ubicuos que infectan numerosas especies de vertebrados, incluíndo ao home, aos animais domésticos e aos salvaxes, aínda que nestes últimos a bibliografía é limitada. O obxectivo da presente Tese de Doutoramento é investigar a presenza de ambos enteropatóxenos en fauna salvaxe de Galicia, contribuíndo así ao coñecemento do impacto biolóxico que teñen os citados parasitos nestes animais. Para este fin, dispúxose de 734 mostras pertencentes a 32 comunidades de macroinvertebrados bentónicos, 31 réptiles (7 especies), 433 aves (64 especies), 198 mamíferos mariños (9 especies) e 40 mamíferos terrestres (16 especies). A metodoloxía utilizada incluíu métodos difásicos de concentración de formas parasitarias, unha técnica de inmunofluorescencia directa para a súa detección microscópica e estudos de bioloxía molecular baseados na técnica de PCR e secuenciación de fragmentos dos xenes que codifican a SSU-rDNA, a  $\beta$ -giardina e a rexión ITS1-5.8S-ITS2 de *Giardia* e os xenes que codifican a SSU-rDNA e HSP70 de *Cryptosporidium*. Obtivéronse valores de prevalenza do 4,5% e 8,9% para *Giardia* e *Cryptosporidium*, respectivamente, detectándose ámbolos dous parasitos en tódolos grupos de animais estudados. Independentemente da necesidade de confirmar se son verdadeiras infeccións ou se os animais son meros diseminadores da contaminación, os resultados obtidos permiten ampliar o número de especies que albergan estes parasitos, reforzando a hipótese de que ambos protozoos teñen un amplo rango de hóspedes entre a fauna salvaxe. A identificación maioritaria dos xenotipos A e B de *Giardia duodenalis* e da especie *Cryptosporidium parvum*, comúns ao home, animais domésticos e gando, en lugar dos xenotipos/especies propios dos hóspedes estudados, suxire que a fonte de infección/contaminación para a fauna salvaxe deriva das actividades de orixe antrópico. Desta forma, non se pode afirmar que os animais salvaxes representen un importante reservorio da giardiose e da criptosporidiose en Galicia.

**PALABRAS CHAVE:** *Giardia*; *Cryptosporidium*; Fauna salvaxe; Macroinvertebrados bentónicos; Galicia; “Saúde Compartida”.



## ABSTRACT

With the raising of the XXI century, the 'One Health' concept, which focuses on the health care of humans, animals and the environment from an interdisciplinary approach, is acquiring importance in the control of emerging/re-emerging diseases and environmental conservation, both essential for human wellbeing. Wildlife is often recognized as the source of human infections, but the role that plays on the transmission of zoonotic diseases is not completely clear. *Giardia* and *Cryptosporidium* are ubiquitous protozoan parasites that infect a wide range of vertebrates, including humans, domestic and wildlife animals. The aim of this Ph.D. Thesis is to investigate the presence of both enteropathogens in wildlife from Galicia, and to contribute to the knowledge of the impact that these parasites have on wild animals. For this purpose, samples of 32 macroinvertebrate communities, 31 reptiles (7 species), 433 birds (64 species), 198 marine mammals (9 species) and 40 terrestrial mammals (16 species) were analysed. Diphasic methods and a direct immunofluorescence antibody test were used for concentration and detection of the parasitic forms. Molecular methods based on PCR and sequencing of the ITS1-5.8S-ITS2 region, SSU-rDNA and  $\beta$ -giardin genes of *Giardia* and the SSU-rDNA and HSP70 genes of *Cryptosporidium* were performed in order to identify the species/genotypes of the obtained isolates. Global prevalences of 4.5% and 8.9% were obtained for *Giardia* and *Cryptosporidium*, respectively, being detected both parasites in all animal groups studied. Regardless of the need to confirm if these animals suffer a real infection or they act as mere disseminators of the contamination, the obtained results increase the number of species that harbour both parasites, supporting the hypothesis that these protozoan parasites have a wide range of wildlife hosts. The identification mainly of *Giardia duodenalis* assemblages A and B and *Cryptosporidium parvum*, both identified also in humans, domestic animals and livestock, rather than host specific species/assemblages, suggests that the source of infection/contamination to wildlife is due to anthropogenic activities. Therefore, it cannot be stated that wildlife plays an important role as reservoir of giardiasis and cryptosporidiosis in Galicia.

**KEYWORDS:** *Giardia*; *Cryptosporidium*; Wildlife; Benthic macroinvertebrates; Galicia; 'One Health'.





Aspectos geográficos y faunísticos de Galicia





Galicia se encuentra en el extremo noroccidental de la Península Ibérica, abarcando un área de 29 574 km<sup>2</sup>. Ejercen de límites naturales en esta región, el mar Cantábrico al norte, el océano Atlántico al oeste y las sierras de Os Ancares y O Courel al este, además de limitar al sur con Portugal. El punto más septentrional es el cabo de Estaca de Bares (43° 47' N, 7° 41' O) y el más occidental el cabo Touriñán (43° 3' N, 9° 18' O).

## **1. El relieve**

El relieve actual de Galicia es el resultado de la interacción durante millones de años de una larga serie de factores internos y externos. El sustrato geológico sobre el que se asienta esta región es un roquedo silíceo que data del Paleozoico inferior y del Precámbrico (hace aproximadamente 540 millones de años), representando los materiales más antiguos de la Península Ibérica. A finales del Terciario (hace aproximadamente 60 millones de años), la orogenia alpina fracturó este roquedo, creando una red de fallas que definen el relieve actual. A finales del Terciario, el hundimiento del borde continental originó gran parte de las rías gallegas. También en esta era se configuró la red fluvial actual, adaptándose a la estructura geológica, en la cual quedó encajada. Durante el Cuaternario, los episodios periglaciares, junto con la alteración química y los procesos erosivos, dieron lugar a una estructura de relieve fracturado en la que se distinguen formas glaciares, diferentes formas de erosión del granito, cumbres muy erosionadas, depresiones en las zonas más blandas y profundos valles excavados por los ríos. Además, la transformación de los materiales metamórficos y las variaciones climáticas que han oscilado desde un ambiente tropical, cálido y húmedo, hasta un ambiente templado, pasando por condiciones de extrema sequedad, originaron una serie de grandes unidades morfológicas bien diferenciadas (Aldrey Vázquez, 2010; López-Davalillo Larrea, 2014) (Figura 1):

- **La meseta de Lugo:** se trata de una extensa superficie de erosión cuya altitud media es de 450-550 m. En ella se encuentran las depresiones

fértiles de As Pontes, Sarria, Chantada y, más al sur, el valle de Lemos, con fondos situados a 300-400 m de altitud. Esta meseta está atravesada por el curso alto y medio del río Miño, cuya cuenca fluvial atraviesa pequeñas sierras interiores.

- **La meseta noroccidental:** la segunda gran unidad de relieve del norte de Galicia está formada por una plataforma dispuesta en escalones que conecta las pequeñas sierras de la meseta lucense con la costa atlántica. Su altitud media es de 450-500 m, rebajada localmente por las incisiones formadas por las redes hidrográficas de los ríos Tambre y Ulla.
- **Las Rías Altas:** esta denominación abarca prácticamente todo el frente costero septentrional, formado por una alternancia de tramos lineales y sinuosos en los cuales existen pequeñas rías, antiguos valles fluviales que fueron invadidos por aguas marinas. Hacia el interior, se suceden una serie de valles y tierras bajas que completan las comarcas costeras del norte gallego. Un rasgo común a todas ellas es el predominio de las costas elevadas, con abundancia de promontorios, calas y acantilados escarpados, entre los que se encuentran los más altos de Europa (sierra de A Capelada, 602 m).
- **Las Rías Baixas:** se trata de las rías de mayor amplitud, situadas entre el cabo de Fisterra y el estuario del río Miño, frontera natural con Portugal. Se encuentran perpendiculares a la depresión litoral que discurre por la falla Carballo-Tui y en conjunto forman una sucesión de penínsulas y rías que se van alternando de norte a sur. La ría más septentrional es la de Corcubión y hacia el sur se sitúan las rías de Muros y Noia, la de Arousa, la de Pontevedra y la de Vigo, existiendo además multitud de islas y archipiélagos en estas rías.
- **La dorsal gallega:** está formada por un bloque granítico de grandes proporciones que, fracturado y de forma sinuosa, recorre Galicia de norte a sur. En ella destacan las sierras de Testeiro (902 m), de O Suido (1 055 m), y de Faro de Avión (1 151 m). Constituye una barrera bioclimática y topográfica que limita la llegada de la influencia atlántica al interior gallego, provocando que los efectos pluviométricos sean mucho más acentuados en la vertiente oceánica que en la interior.

- **Las sierras orientales y surorientales:** esta unidad morfológica está formada por un conjunto independiente de macizos en torno a los 2 000 m de altitud, siendo el punto más alto Pena Trevinca (2 124 m). Las sierras situadas entre los ríos Eo y Sil constituyen una frontera natural con Asturias y León, encontrándose aquí las montañas de A Fonsagrada, Os Ancares, O Cebreiro y O Courel. Al sur del río Sil surgen los macizos de Manzaneda y Trevinca, sierras limítrofes con Zamora. Dentro de este intrincado relieve aparecen grandes depresiones como las de A Limia (650 m), Monterrei (450 m), O Bolo (650 m) y Valdeorras (350 m). La fertilidad de las tierras del fondo de estos valles contrasta con la pobreza de las zonas de montaña. Además, el conjunto está surcado por una red fluvial fuertemente encajada, aprovechada para la construcción de numerosos embalses (Aldrey Vázquez, 2010; López-Davalillo Larrea, 2014).

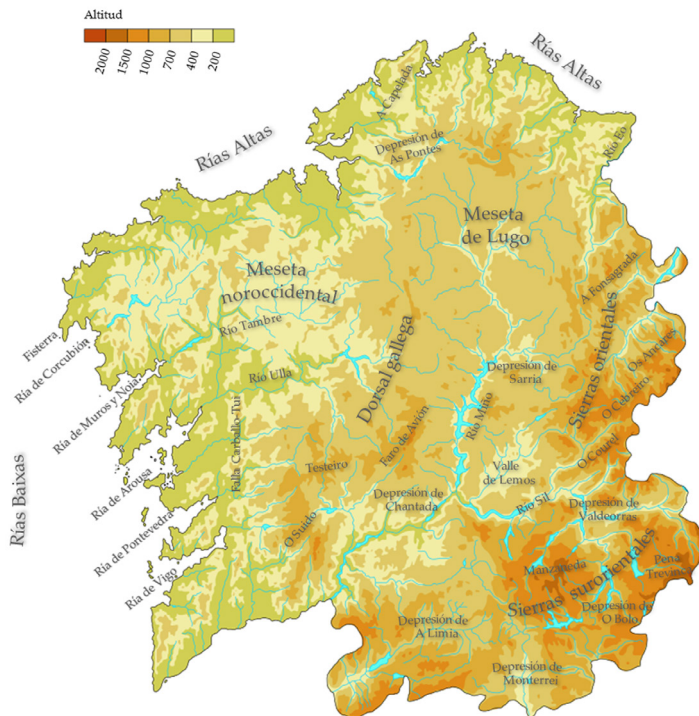


Figura 1. Mapa de Galicia mostrando las principales unidades de relieve.

## **2. El clima**

Galicia, dentro de la Iberia húmeda, presenta un clima oceánico, aunque tiene ciertos caracteres distintivos que la asemejan a los climas atlánticos subtropicales o de transición. Así, sus principales rasgos climáticos están marcados por el ambiente oceánico, manteniéndose mensualmente un ritmo casi constante de insolación, temperatura, precipitaciones y humedad. Además, el particular relieve de la región gallega hace que esta experimente una gran variabilidad de situaciones atmosféricas, posibilitando por tanto la existencia de múltiples matices climáticos que se manifiestan sobre todo en la variedad de regímenes pluviométricos. Aun así, de norte a sur, el clima en Galicia pasa de ser típicamente oceánico a suboceánico. El primero se caracteriza por ser templado y lluvioso, con un máximo pluviométrico invernal, un mínimo en verano y una sequía estival poco marcada. Por el contrario, en las zonas de clima suboceánico se observa un aumento de la sequía estival y una media térmica anual más alta (Pérez Iglesias y Romaní Barrientos, 2000; López-Davalillo Larrea, 2014).

La mayor parte de Galicia tiene unos valores anuales de temperatura media que superan los 10 °C, siendo únicamente inferiores en las regiones montañosas. La oscilación térmica anual se incrementa de forma progresiva desde el noroeste al sureste, aunque los contrastes son débiles. La diferencia de temperaturas entre el mes más frío y el más cálido oscila entre 9-12 °C en la mitad noroccidental de la región, siendo ligeramente superior en el ángulo suroriental. Esta débil amplitud térmica es uno de los rasgos más importantes del clima gallego (Aldrey Vázquez, 2010).

Por otro lado, los valores pluviométricos registrados en Galicia (media anual de 1 000-1 500 mm) superan a los de otras zonas de la fachada atlántica europea. Las vertientes de los macizos montañosos expuestas a los vientos húmedos pueden superar los 2 000 mm anuales, mientras que las partes abrigadas reciben un poco menos de 1 000 mm. La distribución de las lluvias a lo largo de las estaciones (150 días) presenta un sensible descenso durante el verano, particularmente durante los meses de julio y agosto, y un claro incremento a finales del otoño y comienzos del invierno (Pérez Iglesias y Romaní Barrientos, 2000).

### **3. La red fluvial**

El territorio gallego constituye un caso hidrológico excepcional, al existir millares de cursos fluviales como consecuencia del relieve y de la abundante pluviosidad. La mayoría son de corto recorrido y su número se estima en más de 100 000 (Figura 2). El río más largo de la región es el río Miño, que tiene una longitud de 350 km, una cuenca que abarca 12 486 km<sup>2</sup> y un caudal medio de 340 m<sup>3</sup>/s. Todos los ríos gallegos muestran un régimen pluvial atlántico u oceánico, caracterizado por la abundancia y regularidad de sus caudales, con llenadas invernales y estiajes moderados durante el verano. Aunque, en general, los tramos altos de los ríos gallegos son rápidos y oxigenados, al contrario que los tramos medios y bajos, más lentos y anchos, en Galicia este esquema es muy variable (Presas García, 2005). Los que desembocan en la vertiente cantábrica (ríos Navia, Eo, Masma, Ouro, Landro, Sor, Mera...) presentan una mayor regularidad en su régimen de caudales. Sin embargo, los que lo hacen en las Rías Baixas muestran descensos importantes en su caudal durante la época estival (ríos Tambre, Ulla, Deza, Umia, Lérez, Verdugo...). Los ríos que desembocan en el Golfo Ártabro y en la Costa da Morte mantienen caracteres intermedios (ríos Xubia, Eume, Mandeo, Mero, Anllóns, Grande, Castro y Xallas). El río Miño y su principal afluente, el río Sil, tienen una variabilidad en su comportamiento hídrico que los individualiza con respecto al resto de los ríos gallegos debido a su longitud, a la amplitud de sus cuencas y a la diversidad de áreas climáticas que atraviesan (Aldrey Vázquez, 2010).

### **4. Los suelos y la vegetación**

La litología de Galicia se caracteriza por la presencia de rocas duras y ácidas entre las que predomina el granito, aunque también está constituida por pizarra, cuarcita y gneis. Como consecuencia, los suelos son ácidos y poco desarrollados, pudiendo afirmarse que en Galicia predominan los suelos poco fértiles y de aprovechamiento limitado. Las áreas más fértiles se sitúan en zonas individualizadas que coinciden con el fondo de los valles o las tierras litorales. Además, debido al uso intensivo del suelo en determinadas zonas, existe un continuo proceso de degradación de los recursos edáficos. El uso del suelo se ve influido por el clima y por la proximidad del mar, por lo que es muy variable. En zonas elevadas predomina el uso forestal y la ganadería intensiva de vacuno; por el contrario, en las depresiones el suelo es de uso agrario y urbano. En el litoral, el desarrollo urbano ha propiciado que el uso agrario y pesquero sea el dominante.

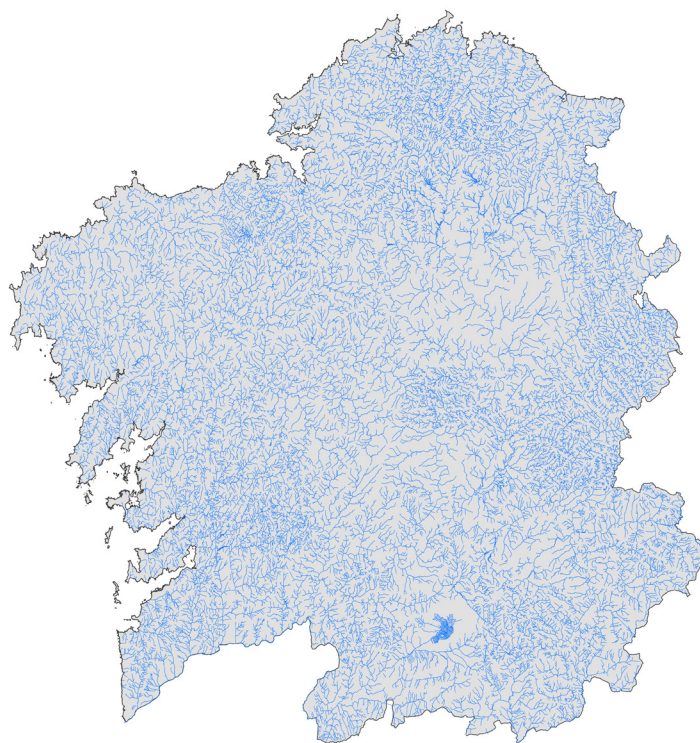


Figura 2. Mapa de Galicia mostrando la profusa red fluvial  
(cortesía de Ohiana Revuleta Avín).

Sin embargo, a pesar de la pobreza y degradación del suelo, el manto vegetal crece abundantemente gracias a la elevada humedad y a la suave temperatura de esta región. La mayor parte de Galicia se incluye en la región Eurosiberiana, con una vegetación propia del clima oceánico, en la que es típico el bosque caducifolio mixto. La especie que predomina es el roble común (*Quercus robur*), excepto en las sierras de Os Ancares y O Courel, donde dominan los robles melojos (*Quercus pyrenaica*), acompañados de alcornoques (*Quercus suber*) por su parte occidental y del roble peciolado (*Quercus petrae*) por el norte y el noroeste. A su vez, los robles se asocian con avellanos (*Corylus avellana*), alisos (*Alnus glutinosa*), olmos (*Ulmus glabra*), fresnos (*Fraxinus excelsior* y *Fraxinus angustifolia*), arces (*Acer pseudoplatanus*), abedules (*Betula alba*) y hayas (*Fagus sylvatica*). En el sotobosque crecen helechos y musgos, en un ambiente sombrío originado por las copas de los árboles.



No obstante, el paisaje vegetal actual difiere de su composición originaria como consecuencia de la paulatina acción antrópica. La intensa roturación, la deforestación secular, el mantenimiento del matorral propio del sistema tradicional de explotación ganadera y la reforestación intensiva con especies foráneas son factores que explican esta transformación. Así, en la evolución del paisaje vegetal se pueden diferenciar dos fases: la primera de ellas data de la época prerromana y se caracteriza por la ampliación del espacio cultivado y de los pastizales, causando así una reducción del bosque y del matorral atlántico. En esta fase destaca la importancia que adquirió el cultivo del castaño (*Castanea sativa*), introducido en Galicia hace más de 2000 años. La segunda fase se inició en los años cincuenta del siglo XX, consistente en la repoblación masiva del espacio forestal, principalmente con el pino marítimo (*Pinus pinaster*) y con el eucalipto común (*Eucalyptus globulus*). Actualmente, los bosques de frondosas caducifolias se encuentran muy deteriorados y en marcado retroceso, predominando las especies arbóreas foráneas o el matorral de sustitución del bosque originario, principalmente el tojo (*Ulex europaeus*), la retama (*Cytisus scoparius*) y el brezo (*Erica cinerae*) (Aldrey Vázquez, 2010).

Por otro lado, la gran cantidad de ríos existentes en Galicia, así como su carácter permanente, favorece la aparición de los denominados bosques de ribera, adaptados a soportar las crecidas invernales y primaverales. La especie dominante de los bosques de ribera de la región gallega es el aliso (*A. glutinosa*), que solo cede su hegemonía al sauce salguero (*Salix alba*) en las zonas que se encuentran más degradadas. En estos bosques también se pueden encontrar robles comunes, laureles, fresnos y otros árboles propios del bosque caducifolio. El estrato herbáceo es rico en especies propias de zonas de umbría y de lugares encharcados, así como en enredaderas como la hiedra (*Hedera* spp.) y la madreselva (*Lonicera* spp.) (Aldrey Vázquez, 2010).

## 5. La costa y el medio marino

La costa gallega, con una longitud superior a los 1 500 km, presenta una forma muy recortada con multitud de bahías y cabos. Las rías, ya definidas previamente, son las principales unidades de relieve presentes en la costa y en todas ellas existe un fenómeno de circulación estuárica consistente en la entrada, por su parte interior, de agua de origen fluvial, y de una penetración de agua oceánica desde la boca de la ría hacia el interior. El agua dulce del río, de menor densidad, fluye

superficialmente y se mezcla con el agua salada a medida que avanza hacia la boca de la ría, saliendo principalmente por la orilla norte. Este tipo de circulación del agua provoca oscilaciones opuestas entre los niveles de salinidad existentes en la superficie y en el fondo de las rías. Por otro lado, existe una clara diferencia entre las Rías Baixas, abiertas hacia el oeste y de naturaleza más ancha y profunda, y las Rías Altas, habitualmente pequeñas, de poco calado, y abiertas hacia el norte y el oeste.

La plataforma continental de Galicia se caracteriza por ser relativamente estrecha, con unos 20-35 km de anchura, y una profundidad de 100-200 m. Las diferentes corrientes oceánicas que confluyen en esta plataforma, junto con la actuación de vientos estacionales, causan el fenómeno conocido como afloramiento marino, que se produce en estas costas entre los meses de abril y septiembre, provocando la ascensión de aguas profundas, frías y cargadas de nutrientes (Figueiras *et al.*, 2002).

Las características de la costa gallega, que agrupa marismas, playas y tramos rocosos, y zonas de fondos de arena, de fangos, de cascajo, de rocas y de *maërl* (bien oxigenados y poblados de algas rojas calcáreas), en consonancia con el fenómeno de afloramiento marino y el aporte de sedimentos fluviales, hacen que esta región presente uno de los ecosistemas más diversos y productivos del planeta (Peña y Bárbara, 2007).

## 6. La fauna

La biota gallega actual es el resultado de un proceso evolutivo influenciado por la deriva de las masas continentales, el clima y las actividades antrópicas. De esta forma, la fauna de esta región está compuesta tanto por especies típicamente europeas, como por especies de origen africano. Además, la existencia de sierras altas y valles aislados propició la aparición de un número importante de endemismos, especialmente en animales con una limitada capacidad de dispersión, como los invertebrados, los anfibios y los reptiles y, en menor medida, los pequeños mamíferos.

La información disponible sobre la fauna de Galicia se centra principalmente en las especies de vertebrados, estando descritas 563 especies: 308 especies de peces (12 de agua dulce y 296 marinas); 14 especies de anfibios; 30 especies de reptiles;



152 especies de aves nidificantes y 96 especies de mamíferos (69 terrestres y 27 marinas). Por otro lado, el conocimiento de los invertebrados es más limitado, siendo impreciso para algunos grupos, aunque existe un gran interés en ciertas especies marinas que presentan una elevada riqueza en las costas gallegas. Así, están descritas alrededor de 850 especies de moluscos (terrestres, de agua dulce y marinas); 577 especies de anélidos (principalmente poliquetos); 10 000 especies de insectos; 72 especies de crustáceos y 137 especies de equinodermos (Consellería de Medio Ambiente, 2003).

### 6.1. Aves y mamíferos

El número de especies de aves nidificantes en Galicia es de 152, aunque este valor puede variar, ya que en la actualidad algunas especies empiezan a nidificar en esta región, mientras que otras, ante condiciones climatológicas adversas, se ausentan durante ciertas temporadas, llegando incluso a desaparecer permanentemente. Además, la situación geográfica gallega, entre el ecuador y el Polo Norte, su posición sobre el océano Atlántico y la capacidad de dispersión de estos vertebrados, permiten que en esta región se puedan observar aves de diferentes latitudes, tanto nórdicas como africanas, incrementándose hasta aproximadamente 400 el número de especies de aves que se puede avistar en Galicia (Penas Patiño *et al.*, 2004).

Entre los mamíferos terrestres, el grupo más numeroso es el correspondiente a los quirópteros, que cuenta con 19 especies en el territorio gallego. Los roedores están representados por 17 especies, seguidos por los carnívoros y los insectívoros, con 13 y 10 especies, respectivamente. Existen también siete especies de artiodáctilos y tres de lagomorfos (Díaz d'a Silva y Cartelle Serantes, 2007).

Esta elevada riqueza de mamíferos se debe a la gran variedad de hábitats existente y a la situación convergente de las dos regiones biogeográficas presentes en Galicia: la eurosiberiana y la mediterránea. Entre las especies de influencia atlántica destacan la musaraña enana (*Sorex minutus*), el musgano patiblanco (*Neomys fodiens*), el topillo rojo (*Clethrionomys glareolus*), la rata de agua (*Arvicola sapidus*) y murciélagos como el orejudo dorado (*Plecotus auritus*) y el rabudo (*Tadarida teniotis*). Bajo la influencia mediterránea se encuentran otras especies como el murciélago pequeño de herradura (*Rhinolophus hipposideros*), el murciélago ratonero mediano

(*Myotis blythii*) y el murciélago orejudo gris (*Plecotus austriacus*) (Díaz d'a Silva y Cartelle Serantes, 2007).

## 6.2. Anfibios y reptiles

En el contexto ibérico y europeo, Galicia posee una diversidad relativamente elevada tanto de anfibios (cinco especies de urodelos y nueve especies de anuros) como de reptiles, entre los que se encuentran 30 especies —ocho quelonios, incluyendo un galápago introducido, el galápago de Florida (*Trachemys scripta*), y cinco tortugas marinas, de las cuales solo dos son de presencia regular, la tortuga boba (*Caretta caretta*) y la tortuga laúd (*Dermochelys coriacea*); un anfisbénido, la culebrilla ciega (*Blanus cinereus*); 13 saurios; y, ocho ofidios— (Galán, 2002). Esta diversidad es también consecuencia de la posición geográfica de transición entre las regiones eurosiberiana y mediterránea, que origina una mezcla de especies características de ambas, además de los endemismos propios del área occidental de la Península Ibérica. También, las variadas morfología y climatología gallegas crean un mosaico de hábitats y condiciones ambientales diferentes que, en conjunto, permiten la existencia de una herpetofauna muy diversa, siendo el litoral de las Rías Baixas y determinadas comarcas cálidas del interior, las zonas de mayor diversidad en Galicia (Galán, 2005).

Con respecto a los anfibios, la mayor riqueza de especies se presenta en las comarcas costeras y en zonas montañosas próximas, relacionándose con áreas de mayor pluviosidad y menor amplitud térmica. Por el contrario, las temperaturas más elevadas de la mitad sur del territorio gallego permiten que exista una mayor riqueza de especies de reptiles. Las especies de herpetos de distribución más amplia en Galicia se corresponden mayoritariamente con taxones endémicos de la Península Ibérica, como la rana patilarga (*Rana iberica*) entre los anfibios y el lagarto verdinegro (*Lacerta schreiberi*) y la lagartija de Bocage (*Podarcis bocagei*) entre los reptiles. Por otro lado, las especies con menor distribución son las mediterráneas, como el sapo de espuelas (*Pelobates cultripes*) o la salamanguera común (*Tarentola mauritanica*), limitadas a la zona suroriental y a determinadas áreas litorales [Galán, 2002; Sociedad Gallega de Historia Natural (SGHN), 2011].

### 6.3. Fauna asociada a los cursos de agua

Galicia atesora un elevado número de especies endémicas ligadas a los medios acuáticos continentales debido a su profusa red fluvial (más de 100000 cursos de agua) y a sus características orográficas y climáticas (Cobo Gradín *et al.*, 2011). Entre los invertebrados ligados a los cursos fluviales, los macroinvertebrados bentónicos, término que agrupa a aquellos invertebrados de tamaño macroscópico (normalmente mayores de 1 mm y retenidos en redes de malla de 300-500  $\mu\text{m}$ ), han recibido una creciente atención ya que se utilizan frecuentemente para establecer el estado ecológico de las masas de agua (Alba-Tercedor, 1996). En las aguas dulces gallegas, se conocen alrededor de 140 familias de macroinvertebrados bentónicos que incluyen 1 314 especies, de las que la mayor parte corresponden a insectos acuáticos (980 especies). Dentro de este conjunto, los dípteros destacan como el grupo dominante (450 especies), seguidos por los coleópteros (200 especies), los tricópteros (147 especies) y, en menor medida, por otros grupos de insectos hemimetábolos de menor diversidad (odonatos, efemerópteros, plecópteros y heterópteros). Entre los restantes taxones, la mayor contribución corresponde a los anélidos, principalmente a los oligoquetos, de los que se conocen aproximadamente 100 especies; también están presentes los rotíferos con 92 especies y los nematodos con 50 especies (González González y Cobo Gradín, 2005). Además, existen diversas especies de moluscos bivalvos, entre las cuales destaca la perla de río (*Margaritifera margaritifera*), especie propia de ríos de aguas frías y oxigenadas en las que viven los salmónidos y que actualmente se encuentra en clara regresión, siendo una de las especies de moluscos bivalvos más amenazadas de Europa (Young *et al.*, 2001).

Entre los peces continentales presentes en Galicia, abundan los salmónidos, además de algunos ciprinídeos endémicos de la Península Ibérica como la bermejuela (*Rutilus arcasii*), la boga de río (*Chondrostoma polylepis*) y el bordallo (*Leuciscus carolitertii*). Además, es de destacar la presencia de especies migradoras, como la anguila (*Anguilla anguilla*), la lamprea (*Petromyzon marinus*) y el salmón (*Salmo salar*) (Doadrio *et al.*, 2006).

Por otro lado, aunque no habitan en el propio medio acuático, existen diversas especies de vertebrados que dependen estrechamente del curso fluvial. Diferentes especies de mamíferos, aves y reptiles, aunque no son propiamente animales acuáticos, están suficientemente adaptadas a este medio como para

explotar directamente los recursos presentes en el agua. Entre ellas destacan el desmán ibérico (*Galemys pyrenaicus*) y el mirlo acuático (*Cinclus cinclus*), ambas dependientes de los macroinvertebrados bentónicos que habitan en el lecho del río para su alimentación. Igualmente, son importantes la nutria (*Lutra lutra*) y el visón americano (*Neovison vison*), la garza real (*Ardea cinerea*), el martín pescador (*Alcedo atthis*), la culebra de agua (*Natrix maura*) y el galápago europeo (*Emys orbicularis*) como especies depredadoras de otros vertebrados. Además, existen especies con hábitos herbívoros ligadas a los ríos, como la rata de agua (*A. sapidus*) y el ánade real (*Anas platyrhynchos*) (Santamarina-Fernández, 2005). También los anfibios necesitan del medio acuático para completar su ciclo vital, destacando entre ellos la rana patilarga (*R. iberica*), especie fuertemente ligada a los cursos fluviales, y la salamandra rabilarga (*Chioglossa lusitanica*), presente en tramos bien oxigenados y no contaminados. Finalmente, es de destacar la presencia de tritones (*Lissotriton helveticus*, *Lissotriton boscai* y *Triturus marmoratus*) en las charcas y en los ríos más pequeños y estancados (SGHN, 2011).

Los ríos y sus riberas representan unos ecosistemas especialmente ricos, ya que son zonas de estrecho contacto entre los medios acuático y terrestre. El bosque de ribera, además de permitir la conservación de la vegetación caducifolia autóctona, constituye junto con los ríos, corredores naturales que proporcionan refugio esencial para muchas especies animales. Entre ellas destacan especies de mamíferos como el turón (*Mustela putorius*), el armiño (*Mustela erminea*) y el murciélago ribereño (*Myotis daubentonii*); de aves como la golondrina (*Hirundo rustica*) y la oropéndola (*Oriolus oriolus*); y, de reptiles como el lagarto verdinegro (*L. schreiberi*) (Santamarina-Fernández, 2005).

#### 6.4. Fauna marina

Las características hidro-oceanográficas de la costa gallega, el afloramiento marino y el aporte de sedimentos fluviales ocasionan que las aguas marinas sean muy ricas en nutrientes (Fraga, 1981). Además, sus características geográficas, que ofrecen un gradiente continuo de exposición al oleaje desde las zonas más internas y protegidas hasta las costas externas y fuertemente batidas, hacen que las aguas que bañan las costas gallegas constituyan un enclave idóneo para el estudio de la biodiversidad, ofreciendo también unas excelentes condiciones para el desarrollo de organismos de interés comercial.

Entre los invertebrados que habitan en el litoral gallego destacan el elevado número de especies de poliquetos, incluyendo especies móviles frecuentes en sustratos rocosos como *Eulalia viridis* y otras de naturaleza sésil como la conocida *Pomatoceros triqueter*, observada frecuentemente incrustada sobre las conchas de moluscos. Entre las especies de crustáceos más comunes destacan el percebe (*Pollicipes pollicipes*), la centolla (*Maja brachydactyla*) y el buey de mar (*Cancer pagurus*) como las especies de mayor interés comercial. Igualmente, entre los moluscos de importancia económica se incluyen el mejillón (*Mytilus galloprovincialis*), la ostra (*Ostrea edulis*), la vieira (*Pecten maximus*), la zamburiña (*Chlamys varia*), el berberecho (*Cerastoderma edule*) y diversas especies de almejas. También, existen más de 75 especies de cefalópodos, entre las que cabe citar el calamar común (*Loligo vulgaris*) y el pulpo (*Octopus vulgaris*) (Guerra, 1992).

Por otra parte, entre las especies de vertebrados que habitan en el medio marino están citadas más de 300 especies de peces (Solórzano *et al.*, 1988), entre las que destacan, por su abundancia e importancia económica, la merluza (*Merluccius merluccius*), la bacaladilla (*Micromesistius poutassou*), el jurel (*Trachurus trachurus*), el gallo (*Lepidorhombus whiffiagonis*), el rape (*Lophius piscatorius*), la sardina (*Sardina pilchardus*) y la caballa (*Scomber scombrus*), además de especies de elasmobraquios como la pintarroja (*Scyliorhinus canicula*) (Bañón *et al.*, 2010).

En el litoral gallego, se han citado alrededor de 50 especies de aves, sobre todo en las islas que conforman el Parque Nacional Marítimo-Terrestre de las Islas Atlánticas de Galicia, donde cabe mencionar la existencia de las colonias más abundantes en España de cormoranes (*Phalacrocorax carbo* y *Phalacrocorax aristotelis*) y de ciertas especies de gaviotas (*Larus* spp.). En el resto de la costa gallega son abundantes las aves limícolas como el vuelvepiedras (*Arenaria interpres*) y el andarríos chico (*Actitis hypoleucos*) (Arcos *et al.*, 2009). Además, se ha descrito la presencia de cinco especies de tortugas marinas y de 27 especies de mamíferos marinos, de los cuales 22 son cetáceos (ballenas, marsopas y delfines) y cinco son pinnípedos (focas). Las especies de cetáceos más frecuentes en la costa gallega son los odontocetos, concretamente, el delfín común (*Delphinus delphis*), el delfín mular (*Tursiops truncatus*), la marsopa (*Phocoena phocoena*), el delfín listado (*Stenella coeruleoalba*) y el calderón común (*Globicephala melas*), que representan el 84% de los varamientos anuales de cetáceos y el 95% de los avistamientos. Igualmente, se

han citado otras especies menos frecuentes, como el rorcual aliblanco (*Balaenoptera acutorostrata*) y la foca gris (*Halichoerus grypus*) (López *et al.*, 2002; Pierce *et al.*, 2010).

### 6.5. Amenazas y conservación

Como ya se ha comentado anteriormente, el paisaje natural de Galicia se encuentra alterado en numerosas zonas como resultado de las actividades antrópicas. Algunas de estas alteraciones suponen una amenaza para muchas especies animales, siendo por tanto responsables de una pérdida de biodiversidad. Entre las principales amenazas comunes a las que se enfrentan los diferentes grupos de animales se incluyen: (1) la destrucción del hábitat; (2) la introducción de especies exóticas invasoras; (3) las prácticas agrícolas inadecuadas; (4) la sobreexplotación de las especies; (5) el cambio climático; y, (6) la contaminación.

La destrucción del hábitat es la principal causa de pérdida de biodiversidad a nivel global (Krauss *et al.*, 2010). En Galicia, todos los grupos de animales están, en mayor o menor medida, afectados por esta causa. Para las especies con una capacidad de dispersión reducida, como los herpetos, esta es la principal amenaza para la sostenibilidad de sus poblaciones. Así, la destrucción y eliminación de hábitats acuáticos estacionales, consecuencia de desecaciones y drenajes, conlleva a la eliminación de los lugares de cría de los anfibios. Por su parte, los reptiles se ven muy influenciados por los cambios en la vegetación y la degradación del bosque autóctono (Galán, 2005), constituyendo también una importante causa de regresión de numerosas especies de aves [Sociedad Española de Ornitología (SEO)/BirdLife, 2010]. En el caso de los mamíferos, la pérdida y la fragmentación del hábitat es la principal amenaza, ya que impide la existencia de corredores biológicos necesarios para el contacto interpoblacional y el mantenimiento genético de las especies (Blanco, 2007).

La introducción de especies exóticas invasoras está considerada como la segunda causa de pérdida de biodiversidad a nivel mundial, al suponer una amenaza directa para muchas especies autóctonas, reduciendo su abundancia y distribución (Butchart *et al.*, 2010). Así, el visón americano (*N. vison*), especie introducida en Galicia con fines comerciales y que “accidentalmente” alcanzó el medio natural, parece desplazar a su pariente autóctono (*Mustela lutreola*) a través de la competencia directa, ejerciendo además una depredación sobre otras especies

de menor tamaño. También, las especies invasoras pueden ser portadoras de enfermedades transmisibles a las especies autóctonas, con el consecuente declive de estas últimas (Melero y Palazón, 2011).

Entre las prácticas agrícolas inadecuadas, el uso de productos fitosanitarios y la acumulación de biocidas en el ambiente son importantes causas de mortalidad de los huevos de anfibios (Galán, 2005), estando también afectadas las aves y los pequeños mamíferos, como los quirópteros y los roedores. Además, la agricultura y silvicultura intensivas afectan de forma sustancial a las poblaciones de pequeños mamíferos y de aves forestales y de matorral. De esta forma, las plantaciones monoespecíficas de pino o eucalipto dificultan la alimentación y reproducción de muchas especies [Grupo de Estudio de los Animales Salvajes (GEAS), 2015; Sociedad Gallega de Ornitología (SGO), 2015].

La sobreexplotación cinegética y pesquera, sin atención a la sostenibilidad, así como la eliminación directa de ciertas especies, fueron hasta hace relativamente poco tiempo una importante causa del empobrecimiento de la biodiversidad en Galicia. También, el uso ilegal de trampas y cebos envenenados, con sustancias tóxicas no selectivas que pueden difundirse a través de la cadena trófica, produce un elevado número de pérdidas entre la fauna salvaje (Galán, 2005; GEAS, 2015).

Por otra parte, el clima es uno de los principales factores que regula la distribución de las especies. El cambio climático experimentado en estos últimos años a nivel global ocasiona variaciones ambientales que pueden ser perjudiciales para numerosas especies, llegando algunas incluso a desaparecer. Así, especies de anfibios, reptiles y pequeños mamíferos pueden verse afectadas por ligeras alteraciones en la temperatura, humedad y radiación ultravioleta. Además, algunas poblaciones de aves se ven influenciadas, alterando sus áreas de distribución y sus patrones migratorios (Penas Patiño *et al.*, 2004; Galán, 2005).

La contaminación ambiental representa también una amenaza para muchas especies. En los ecosistemas acuáticos, los vertidos de aguas residuales de diferente procedencia (urbana, industrial, agrícola...) constituyen el principal problema. El impacto de un vertido puede conducir a la sustitución de las especies más sensibles por otras más resistentes, o incluso a su completa desaparición. Así, son ampliamente conocidos los efectos negativos que los vertidos ejercen sobre la fauna fluvial y sobre la composición de la comunidad de macroinvertebrados bentónicos.



Este tipo de contaminación está presente de forma temporal o permanente en el 90% de la red hidrográfica gallega (González González y Cobo Gradín, 2005; Soto y Ruiz, 2005). Igualmente, los vertidos contaminantes son frecuentes a lo largo del litoral, ejerciendo un efecto negativo sobre los patrones de actividad y distribución de algunas especies de mamíferos marinos (López *et al.*, 2002). Además, como consecuencia del intenso tráfico marítimo que soportan las aguas de esta región, pueden ocurrir accidentes tan graves como el acaecido en noviembre de 2002 con el petrolero *Prestige*, cuyo vertido afectó en gran medida a la biodiversidad, tanto marina como terrestre. Finalmente, la contaminación de los ecosistemas por materiales fabricados por el hombre (plásticos, redes...) origina, en ciertas ocasiones, la mortalidad de algunas especies de aves, reptiles y mamíferos marinos.

Otras amenazas que afectan en mayor o menor medida a algunas especies están asociadas a las infraestructuras relacionadas con la actividad humana. Así, la red vial supone una causa importante de mortalidad para muchas especies de anfibios, reptiles, pequeños mamíferos, como el erizo (*Erinaceus europaeus*) o el conejo (*Oryctolagus cuniculus*), y, en menor medida, aves, además de fragmentar el hábitat, impidiendo el intercambio genético entre poblaciones y la consecuente pérdida de variabilidad genética. Otras infraestructuras, como los tendidos eléctricos y los parques eólicos, son responsables de un elevado número de muertes y lesiones, principalmente entre las aves y los murciélagos (GEAS, 2015; SGO, 2015). Por otro lado, el ya comentado tráfico marítimo ejerce una presión sobre los animales acuáticos, principalmente entre los cetáceos, siendo una causa frecuente de desorientación en estos animales, pudiendo ser responsable de algunos de los numerosos varamientos que se registran en las costas gallegas (López *et al.*, 2003). Además, la interacción con la industria pesquera y las artes de enmalle suponen una gran amenaza, no solo para estas especies, sino también para los peces y otros animales marinos que carecen de interés comercial, además de afectar a ciertas especies de aves marinas (SGO, 2015).

Ante las amenazas descritas, distintos organismos establecieron normativas centradas en el mantenimiento de los procesos ecológicos esenciales y de los sistemas vitales básicos; en la preservación de la diversidad biológica, genética, de poblaciones y de especies; en la variedad y singularidad de los ecosistemas naturales; así como en la diversidad geológica y del paisaje. En Galicia, la totalidad de especies de anfibios, reptiles y mamíferos marinos se encuentra legalmente



protegida por la Directiva Hábitat de la Unión Europea (Directiva 92/43/CEE del Consejo, de 21 de mayo de 1992), por la Ley 4/89 (BOE núm. 74, de 28 de marzo de 1989) y la Ley 42/07 (BOE núm. 299, de 14 de diciembre de 2007) del Estado Español. De igual forma, un elevado número de especies de mamíferos y de aves también se encuentran amparadas por estas y otras normativas como es la Directiva Aves (Directiva 2009/147/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 30 de noviembre de 2009). A nivel autonómico, en el catálogo gallego de especies amenazadas [Decreto 88/2007 (DOG núm. 89, de 9 de mayo de 2007)], se incluye un gran número de especies contempladas en las normativas citadas, así como de otras especies autóctonas.

Por otra parte, la conservación de las especies amenazadas está íntimamente asociada a la existencia de espacios naturales, los cuales presentan un régimen especial de protección de acuerdo con diferentes normativas, tanto internacionales, como estatales y autonómicas. De esta forma, el 12% del territorio gallego se encuentra protegido, incluyendo los principales ecosistemas y paisajes característicos de esta región, entre los que destacan: el Complejo Intermareal Umia - O Grove, A Lanzada, Punta Carreirón y laguna Bodeira, humedal designado de acuerdo con la Convención de Ramsar sobre los Humedales; las Mariñas Coruñesas y Terras do Mandeo, declaradas Reservas de la Biosfera por la Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO); el Sistema fluvial Ulla-Deza, la Costa Ártabra y Pena Trevinca, consideradas Zonas de Especial Conservación (ZEC) y el Estuario del río Miño y el complejo Litoral de Corrubedo, declaradas Zonas de Especial Protección para las Aves (ZEPA), formando parte todas ellas de la Red Natura 2000, protegidas por la Unión Europea; el Parque Nacional Marítimo-Terrestre de las Islas Atlánticas de Galicia; y, la playa de las Catedrales, declarada Monumento Natural a nivel autonómico (Figura 3). De igual forma, la conservación de las especies amenazadas requiere la elaboración de planes de gestión adaptados a las necesidades biológicas de cada una de las especies catalogadas. Así, en Galicia existen planes de recuperación, como los del galápago europeo (*E. orbicularis*) y del oso pardo (*Ursus arctos*), y planes de conservación, como el del chorlito patinegro (*Charadrius alexandrinus*) (Xunta de Galicia, 2016).

Finalmente, es de destacar la importante labor que desempeñan los cuatro Centros de Recuperación de Fauna Salvaje (CRFS) existentes en Galicia, instalaciones habilitadas por la *Consellería de Medio Ambiente e Desenvolvemento*

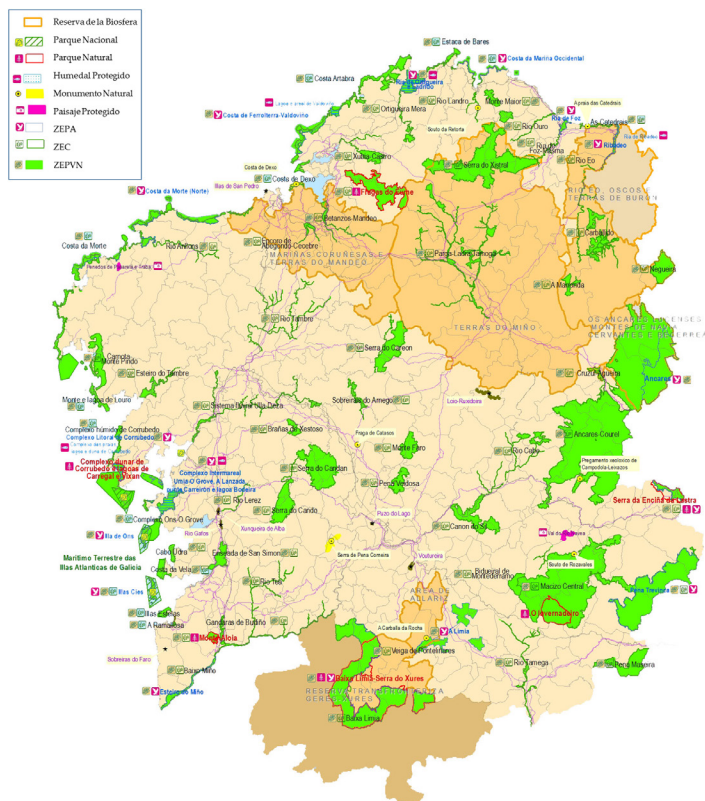


Figura 3. Mapa de Galicia mostrando los espacios protegidos (adaptado de Xunta de Galicia, 2016).



*Giardia y Cryptosporidium*



## 1. *Giardia*

### 1.1. Breve reseña histórica

Los organismos del género *Giardia* ocupan un lugar especial en el campo de la protozoología, ya que fueron los primeros protozoos parásitos detectados en el hombre. Concretamente, en 1681, Antonie van Leeuwenhoek observó trofozoítos de este flagelado en sus propias heces (Dobell, 1932). Sin embargo, no fue hasta 1859 cuando se publicó la primera descripción detallada de este protozoo por Vilém Lambl (Lambl, 1859). Posteriormente, en 1882, Kunstler designó a este conjunto de organismos con el nombre genérico de *Giardia* (Kunstler, 1882). Durante mucho tiempo se dudó de su carácter parásito o comensal. En 1902, el parasitólogo Charles Wardell Stiles sospechó la existencia de una relación causal entre su presencia y la diarrea. Además, este mismo autor utilizó por primera vez el nombre de *Giardia lamblia* para designar a la especie detectada en el hombre (Stiles, 1932). Durante la I Guerra Mundial, se comprobó que los soldados con procesos diarreicos eliminaban quistes de *Giardia* en sus heces, los cuales, tras su administración, causaban síntomas similares en animales de laboratorio (Fantham y Porter, 1916). En 1921, Clifford Dobell sugirió que *Giardia* era un organismo patógeno (Dobell, 1921) y Reginald Miller, en 1926, comprobó que algunos niños infectados por este flagelado eran asintomáticos mientras que otros padecían un síndrome de malabsorción (Miller, 1926). En 1952, Filice agrupó todas las especies encontradas hasta el momento en el hombre y en otros mamíferos bajo el nombre de *Giardia duodenalis* (sinónimo de *Giardia lamblia*, *Giardia intestinalis*) (Filice, 1952). Finalmente, en 1954, tras estudios detallados realizados por Robert Rendtorff, se demostró que este protozoo estaba relacionado con enfermedad (Cox, 2002). Actualmente, no existe ningún tipo de duda sobre el impacto que presentan las infecciones provocadas por *Giardia* en el hombre, especialmente en la población infantil y en los individuos inmunocomprometidos (Thompson *et al.*, 2008).

## 1.2. Morfología y biología

Los miembros del género *Giardia* son protozoos flagelados que pertenecen a la clase Zoomastigophora y al orden Diplomonadida. Poseen características poco usuales como son la presencia de dos núcleos diploides, la ausencia de aparato de Golgi, de mitocondrias y de peroxisomas y la existencia de un orgánulo de acoplamiento único, el disco ventral de succión (Adam, 2001). Presentan dos fases de desarrollo morfológicamente diferentes, el trofozoíto y el quiste. El trofozoíto reside y se multiplica en la porción proximal del intestino delgado del hospedador y es el causante de las manifestaciones clínicas de la enfermedad. El quiste, eliminado con las heces, es el responsable de la transmisión (Hill y Nash, 2011).

En la especie *G. duodenalis*, el trofozoíto, de morfología piriforme y simetría bilateral, presenta una longitud de 12-15  $\mu\text{m}$  y una anchura de 5-9  $\mu\text{m}$ . Posee ocho flagelos: dos anteriores, dos posteriores, dos ventrales y dos caudales. En la cara ventral, se observa una estructura en forma de disco bilobulado, cuya función es la fijación del parásito a la superficie del epitelio intestinal. En la cara dorsal, coincidiendo en posición con el citado disco, se sitúan dos núcleos ovalados con grandes endosomas. En la superficie ventral, se disponen unos elementos denominados cuerpos medios, cuya función es desconocida (Thompson, 2011).

El quiste, de forma ovalada con un tamaño de 8-12  $\mu\text{m}$  de longitud y 6-10  $\mu\text{m}$  de anchura, presenta una pared de 0,3-0,5  $\mu\text{m}$  de grosor, transparente y muy resistente. Cuando está maduro, tiene cuatro núcleos que siempre aparecen dispuestos en alguno de los polos. Carece de flagelos, aunque se pueden apreciar los axonemas flagelares y los cuerpos medios duplicados (Thompson, 2011).

Las especies del género *Giardia* poseen un ciclo biológico directo muy sencillo (Figura 4). Los quistes, eliminados con las heces de un hospedador infectado y ambientalmente resistentes, inician la infección al ser ingeridos por otro hospedador susceptible. Como respuesta a la exposición al medio ácido del estómago y posteriormente a las sales biliares del intestino delgado proximal, el quiste libera dos trofozoítos en la luz del duodeno. A continuación, los trofozoítos se adhieren a través de su disco ventral a la superficie de las microvellosidades intestinales por debajo de la mucosidad y comienzan a multiplicarse por fisión binaria longitudinal. Posteriormente, son arrastrados con el contenido intestinal, llegando a la parte inferior del intestino delgado, donde comienzan a transformarse

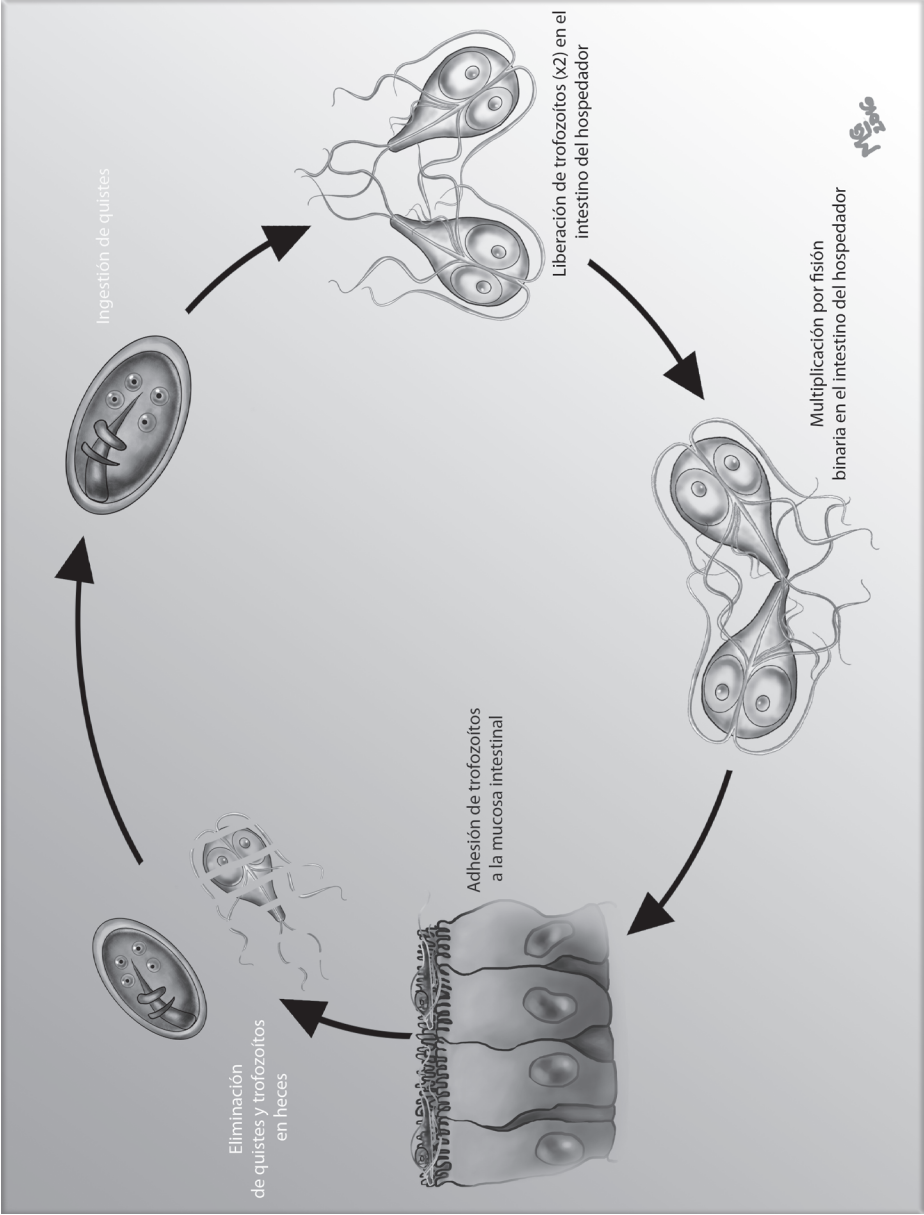


Figura 4. Representación gráfica del ciclo biológico de *Giardia* spp.  
(cortesía de María Lamprecht Grandío).

en quistes ovalados en respuesta a la reducción del colesterol y a la digestión de las grasas. A continuación, recorren el intestino grueso, siendo finalmente liberados al exterior con las heces del hospedador (Hill y Nash, 2011).

### 1.3. Especies y genotipos

Las especies del género *Giardia* infectan a numerosos vertebrados, incluyendo anfibios, aves y mamíferos. A pesar de su larga historia, más de 300 años, su taxonomía y la relación con sus hospedadores todavía no están clarificadas (Thompson y Monis, 2012). Previamente a la agrupación realizada por Filice en 1952, estaban descritas más de 40 especies, principalmente basándose en la especificidad de hospedador. La mayoría de estas se incluyeron en el grupo de *G. duodenalis*. Aquellas encontradas en anfibios se incorporaron dentro de *Giardia agilis*, mientras que las propias de aves y roedores se englobaron en la especie *Giardia muris* (Filice, 1952; Friend, 1966; Thompson *et al.*, 1990). Con posterioridad, se describió la especie *Giardia psittaci* (Erlandsen y Bemrick, 1987) y se reconoció *Giardia ardeae* en aves (Noller, 1920), previamente incorporada al grupo de *G. muris* por Filice y restablecida por Erlandsen *et al.* (1990). De igual forma, la especie *Giardia microti* (Kofoid y Christiansen, 1915), que había sido incluida en el grupo de *G. duodenalis*, fue de nuevo aceptada. Además de estas especies, se detectó, en un varano acuático (*Varanus salvator*) en Malasia, un flagelado similar a la especie previamente denominada *Giardia varani*, especie no válida en la actualidad al no existir datos moleculares al respecto (Upton y Zien, 1997). Por tanto, se reconocen seis especies dentro de este género: *G. agilis* en anfibios; *G. ardeae* y *G. psittaci* en aves; *G. muris* y *G. microti* en roedores; y, *G. duodenalis* en numerosos mamíferos (Tabla 1).

La especie *G. duodenalis* es la única que infecta al hombre y actualmente está considerada como un complejo multiespecie. Mediante el análisis de diversos marcadores moleculares, se han reconocido ocho grupos genéticos: los genotipos A y B, que afectan tanto al hombre como a otros mamíferos; los genotipos C y D, que se encuentran en cánidos y otros carnívoros salvajes; el genotipo E, propio de artiodáctilos; el genotipo F, descrito en gatos y otros félidos; el genotipo G, propio de roedores; y, el genotipo H, descrito en mamíferos marinos (Tabla 1). Algunas especies y/o genotipos de *Giardia* son propios de un hospedador, mientras que otros presentan un rango de hospedadores más amplio (genotipos A y B) que, al infectar



Tabla 1. Especies de *Giardia* y genotipos de *Giardia duodenalis*.

Especie	Hospedador principal	Referencia
<i>Giardia agilis</i>	Anfibios	Kunstler (1882)
<i>Giardia ardeae</i>	Aves	Noller (1920)
<i>Giardia psittaci</i>	Aves	Erlandsen y Bemrick (1987)
<i>Giardia microti</i>	Roedores	Kofoid y Christiansen (1915)
<i>Giardia muris</i>	Roedores	Friend (1966)
<i>Giardia duodenalis</i>	Mamíferos	Filice (1952)

**Genotipos de *G. duodenalis***

A	Hombre, primates, perros, gatos, rumiantes domésticos, roedores y mamíferos salvajes
B	Hombre, primates, perros y mamíferos salvajes
C	Cánidos
D	Cánidos
E	Artiodáctilos
F	Gatos
G	Roedores
H	Focas

tanto a la especie humana como a otros mamíferos, se considera que muestran un importante carácter zoonótico (Cacciò, 2015).

**2. *Cryptosporidium***

**2.1. Breve reseña histórica**

El género *Cryptosporidium* fue denominado por Ernest Edward Tyzzer en 1907, quien observó por primera vez este protozoo en las glándulas gástricas de ratones de laboratorio y al que designó como *Cryptosporidium muris* (Tyzzer, 1907, 1910). Posteriormente, identificó una segunda especie, también en ratón de laboratorio, a la que denominó *Cryptosporidium parvum*, que se diferenciaba de la primera tanto en su localización en el hospedador como en la morfología de sus ooquistes (Tyzzer, 1912). Con la descripción de *Cryptosporidium meleagridis* infectando a pavos (Slavin, 1955) y tras los primeros hallazgos, en la década de 1970, de infecciones en ganado bovino (Panciera *et al.*, 1971), se empezó a considerar la importancia veterinaria que

actualmente posee *Cryptosporidium*. Además, en 1976, se describieron los primeros casos de cryptosporidiosis en el hombre, diagnosticados en una niña de tres años y en un paciente inmunodeprimido de 39 años (Meisel *et al.*, 1976; Nime *et al.*, 1976). Pese a estos y otros casos esporádicos reportados en el hombre, fue durante la década de 1980, con la dispersión del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), cuando este enteropatógeno atrajo la atención médica, al ser responsable de procesos diarreicos graves y prolongados en pacientes diagnosticados con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Posteriormente, a raíz de un importante brote hídrico acontecido en 1993 en Milwaukee (Estados Unidos) en el que se vieron afectadas 403 000 personas tras el consumo de agua contaminada, *Cryptosporidium* dejó de ser considerado un patógeno exclusivamente oportunista y se reconoció su importancia en salud pública (Mac Kenzie *et al.*, 1994).

## 2.2. Morfología y biología

Históricamente, se ha incluido al género *Cryptosporidium* dentro del phylum Apicomplexa, clase Coccidia y orden Eucoccidiorida. Sin embargo, algunas peculiaridades biológicas del género han reabierto el debate sobre su situación filogenética: (1) la localización de *Cryptosporidium* en una vacuola parasitófora, en la cual la fase endógena de desarrollo se limita a la superficie apical de la célula hospedadora (intracelular pero extracitoplasmática); (2) la fijación del parásito mediante un orgánulo de alimentación situado en la base de la vacuola parasitófora con el fin de facilitar la absorción de nutrientes a partir de la célula hospedadora; (3) la presencia de dos tipos de ooquistes con diferente función, unos de pared fina y otros de pared gruesa; (4) el pequeño tamaño del ooquiste —aunque existe variación interespecífica, en la mayoría de las especies son esféricos y tienen aproximadamente 5  $\mu\text{m}$  de diámetro— el cual carece de estructuras como el esporocisto, el micropilo y los gránulos polares (Tzipori y Widmer, 2000; Petry, 2004); (5) la resistencia a todos los fármacos anticoccidiales evaluados hasta el momento (Blagburn y Soave, 1997; Cabada y White Jr, 2010); y, (6) la presencia de una nueva fase extracelular de desarrollo similar a las existentes en los ciclos biológicos de los gregarínidos (Hijawi *et al.*, 2002; Rosales *et al.*, 2005; Aldeyarbi y Karanis, 2016). Estas características permitirían ubicar al género *Cryptosporidium* fuera del grupo de los coccidios, marcando la divergencia entre gregarínidos y *Cryptosporidium* en la base del phylum Apicomplexa, con anterioridad a la emergencia de los coccidios

(Barta y Thompson, 2006; Navarro-i-Martínez *et al.*, 2011; Ryan y Xiao, 2014). También, recientemente, algunos investigadores han sugerido la inclusión de este género en una nueva subclase, Cryptogregarina, dentro de la clase Gregarinida, ante la observación de ciertas similitudes con los miembros de esta clase: la capacidad de completar su ciclo en ausencia de células hospedadoras, la presencia de estados similares a gamontes extracelulares, la existencia del proceso de sicigia y la habilidad de adaptarse al ambiente que los rodea (Ryan *et al.*, 2016a).

El género *Cryptosporidium* incluye especies de parásitos intracelulares que infectan las células epiteliales, preferentemente del tracto digestivo, de hospedadores vertebrados. El ooquiste, que puede medir entre 3-8  $\mu\text{m}$  de diámetro, es la forma de resistencia del ciclo biológico y el responsable de la transmisión de la enfermedad. Presenta una pared trilaminar extremadamente resistente a la disrupción química y mecánica, manteniendo la viabilidad de los esporozoítos en su interior, incluso en condiciones ambientales adversas (Fayer y Xiao, 2007).

Todas las especies del género *Cryptosporidium* presentan un ciclo biológico directo. A pesar de desarrollarse en un único hospedador, su biología es compleja y consta de varias fases, tanto asexuales como sexuales. La fase infectante, el ooquiste esporulado, contiene cuatro esporozoítos desnudos en su interior. Cuando es ingerido por un hospedador, estos se liberan a través de una sutura existente en la pared del ooquiste, que, en las especies de localización intestinal, se fractura como respuesta a la temperatura corporal, a los ácidos gástricos, a la tripsina y a las sales biliares. A continuación, los esporozoítos se adhieren íntimamente a la superficie de las células hospedadoras (enterocitos). Las sucesivas fases, tanto asexuales como sexuales, se desarrollan en el interior de una vacuola parasitófora de localización intracelular pero extracitoplasmática. Inicialmente, se diferencian en trofozoítos esféricos y, como consecuencia de un proceso de esquizogonia, se forma un esquizonte multinucleado. El esquizonte tipo I contiene 6-8 núcleos que maduran para formar 6-8 merozoítos. Estos merozoítos pueden infectar a células adyacentes, donde sufren de nuevo una división asexual y producen más merozoítos tipo I, o bien se pueden desarrollar para formar un esquizonte tipo II. Cada esquizonte tipo II maduro origina cuatro merozoítos tipo II, responsables del inicio de la fase sexual del ciclo biológico. Durante la reproducción sexual (gametogonia), los merozoítos pueden producir microgamontes o macrogamontes. La división nuclear en el microgamonte conduce a la producción de numerosos microgametos

que son liberados de la vacuola parasitófora, fertilizando a los macrogametos. El producto de la fertilización, el cigoto, se desarrollará hasta formar un ooquiste con cuatro esporozoítos en su interior mediante un proceso de esporogonia. Los ooquistes esporulados son liberados a la luz intestinal. Algunos de estos ooquistes (aproximadamente un 20%) poseen una pared fina que rápidamente se fractura para liberar sus esporozoítos, que infectan las células sufriendo de nuevo los procesos de esquizogonia, gametogonia y esporogonia, y siendo, por tanto, los responsables de la prolongación de la infección en el mismo hospedador. El 80% de los ooquistes restantes desarrollan una pared gruesa y son liberados al exterior con las heces, siendo infectantes para otros hospedadores susceptibles. En este ciclo biológico, tanto la existencia de merozoítos tipo I como de ooquistes de pared fina, producen la reinfección de las células del hospedador, asegurando que grandes cantidades de ooquistes sean liberados al exterior con las heces del mismo (Figura 5).

### 2.3. Especies y genotipos

Durante las últimas décadas, se ha incrementado considerablemente el número de especies descritas dentro del género *Cryptosporidium*. La diversidad de estudios realizados ha permitido clarificar la taxonomía de este género, validando así la existencia de numerosas especies de acuerdo con estudios morfológicos del ooquiste, de caracterización molecular, de especificidad de hospedador y el nombramiento acorde al Código Internacional de Nomenclatura Zoológica (ICZN). Atendiendo a estos requisitos, actualmente se reconocen 30 especies válidas de *Cryptosporidium* (Tabla 2). Igualmente, existen otras especies que no se reconocen como tales debido al incumplimiento de alguno de los citados requisitos (Ryan *et al.*, 2014). También, existen alrededor de 40 genotipos diferentes, que al igual que sucede con muchas de las especies del género, parecen estar fuertemente adaptados al hospedador (Feng, 2010; Ryan y Power, 2012). Es probable que muchos de estos genotipos sean nombrados como nuevas especies de *Cryptosporidium* a medida que los estudios biológicos aporten los datos necesarios para dicha denominación, como ha sucedido recientemente con *Cryptosporidium huwi*, anteriormente genotipo *piscine I*; con *Cryptosporidium avium*, genotipo *avian V*; y, con *Cryptosporidium*

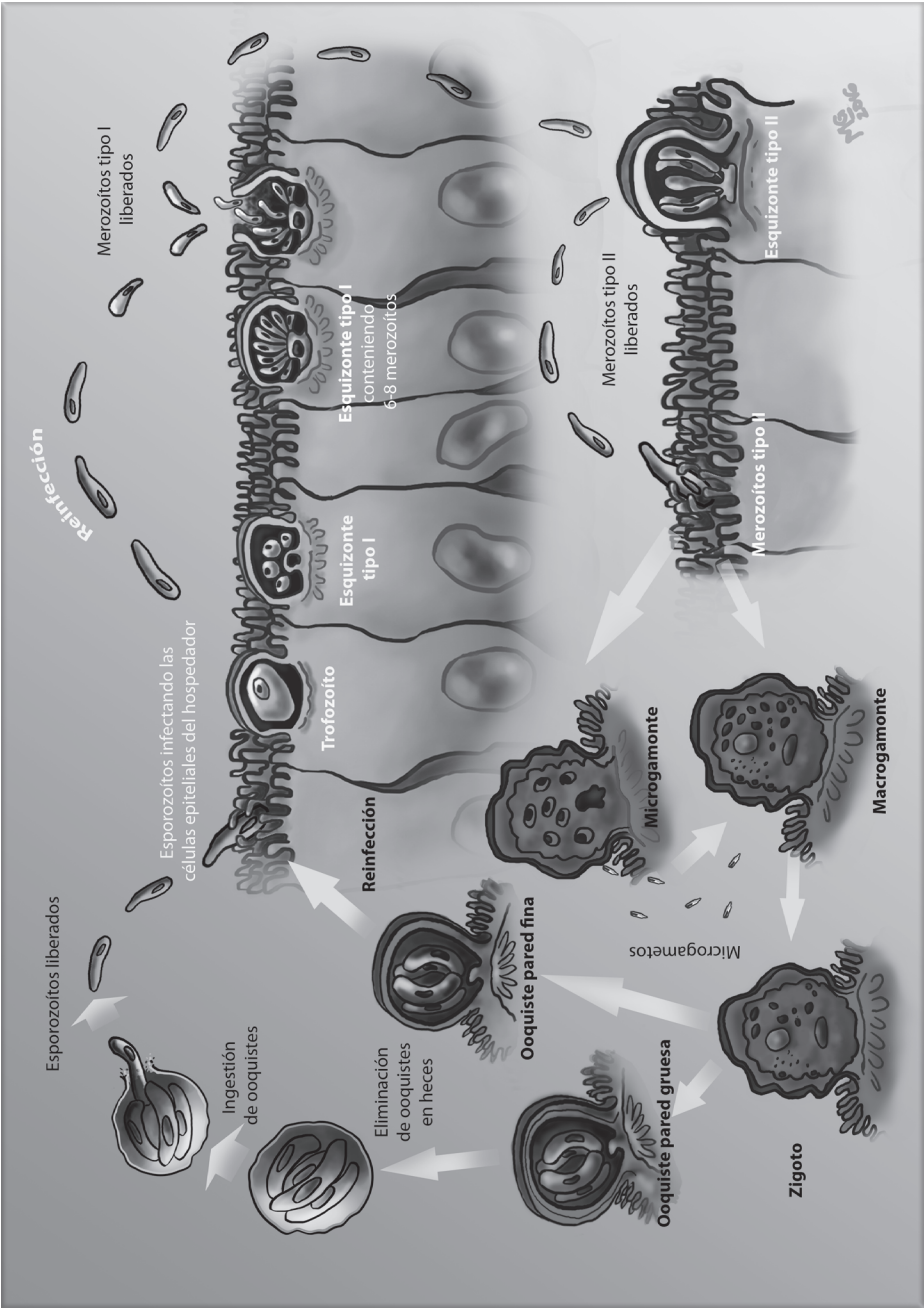


Figura 5. Representación gráfica del ciclo biológico de *Cryptosporidium* spp.  
(cortesía de María Lamprecht Grandío).

Tabla 2. Especies de *Cryptosporidium* actualmente reconocidas.

Especie	Hospedador principal	Localización	Referencia
<i>Cryptosporidium muris</i>	Roedores	Gástrica	Tyzzer (1907, 1910)
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Rumiantes	Intestinal	Tyzzer (1912)
<i>Cryptosporidium meleagridis</i>	Aves	Intestinal	Slavin (1955)
<i>Cryptosporidium wairi</i>	Cobayas	Intestinal	Vetterling <i>et al.</i> (1971)
<i>Cryptosporidium felis</i>	Felinos	Intestinal	Iseki (1979)
<i>Cryptosporidium cuniculus</i>	Conejos	Intestinal	Inman y Takeuchi (1979)
<i>Cryptosporidium serpentis</i>	Reptiles	Gástrica	Levine (1980)
<i>Cryptosporidium baileyi</i>	Aves	Intestinal	Current <i>et al.</i> (1986)
<i>Cryptosporidium varanii</i>	Reptiles	Gástrica	Pavlásek <i>et al.</i> (1995)
<i>Cryptosporidium galli</i>	Aves	Gástrica, proventrículo	Pavlásek (1999)
<i>Cryptosporidium andersoni</i>	Bovinos	Gástrica	Lindsay <i>et al.</i> (2000)
<i>Cryptosporidium canis</i>	Perros	Intestinal	Fayer <i>et al.</i> (2001)
<i>Cryptosporidium molnari</i>	Peces	Gástrica	Álvarez-Pellitero y Sitjà-Bobadilla (2002)
<i>Cryptosporidium hominis</i>	Hombre	Intestinal	Morgan-Ryan <i>et al.</i> (2002)
<i>Cryptosporidium suis</i>	Cerdos	Intestinal	Ryan <i>et al.</i> (2004)
<i>Cryptosporidium bovis</i>	Bovinos	Desconocida	Fayer <i>et al.</i> (2005)
<i>Cryptosporidium fayeri</i>	Marsupiales	Intestinal	Ryan <i>et al.</i> (2008)
<i>Cryptosporidium fragile</i>	Anfibios	Gástrica	Jirku <i>et al.</i> (2008)
<i>Cryptosporidium macropodum</i>	Marsupiales	Intestinal	Power y Ryan (2008)
<i>Cryptosporidium ryanae</i>	Bovinos	Desconocida	Fayer <i>et al.</i> (2008)
<i>Cryptosporidium xiaoi</i>	Ovinos	Desconocida	Fayer y Santín (2009)
<i>Cryptosporidium ubiquitum</i>	Rumiantes, roedores, primates	Intestinal	Fayer <i>et al.</i> (2010)
<i>Cryptosporidium tyzzeri</i>	Roedores	Intestinal	Ren <i>et al.</i> (2012)
<i>Cryptosporidium viatorum</i>	Hombre	Intestinal	Elwin <i>et al.</i> (2012)
<i>Cryptosporidium scrofarum</i>	Cerdos	Intestinal	Kváč <i>et al.</i> (2013)
<i>Cryptosporidium erinacei</i>	Erizos y caballos	Intestinal	Kváč <i>et al.</i> (2014a)
<i>Cryptosporidium rubeyi</i>	Ardillas	Intestinal	Li <i>et al.</i> (2015)
<i>Cryptosporidium huwi</i>	Peces	Gástrica	Ryan <i>et al.</i> (2015)
<i>Cryptosporidium avium</i>	Aves	Intestinal	Holubová <i>et al.</i> (2016)
<i>Cryptosporidium proliferans</i>	Roedores	Gástrica	Kváč <i>et al.</i> (2016)

*proliferans*, previamente conocido como *C. muris* TS03 (Ryan *et al.*, 2015; Holubová *et al.*, 2016; Kváč *et al.*, 2016).

### 3. Giardiosis y cryptosporidiosis

Los protozoos pertenecientes a los géneros *Giardia* y *Cryptosporidium* se suelen estudiar conjuntamente ya que comparten ciertas características biológicas que determinan los aspectos epidemiológicos de las infecciones que causan. Ambos son parásitos ubicuos que infectan tanto al hombre como a los animales domésticos y a otros vertebrados salvajes, incluyendo mamíferos, aves, reptiles, anfibios y peces. Tanto la giardiosis como la cryptosporidiosis se transmiten mediante la ruta fecal-oral, a través de la ingesta de quistes/ooquistes y su presencia ha sido documentada en todo el mundo (Ryan y Xiao, 2014; Abeywardena *et al.*, 2015). Aunque el número de especies que pueden padecer infecciones provocadas por estos enteropatógenos es muy amplio (se han identificado más de 150 especies de mamíferos como hospedadores de *Cryptosporidium*), durante los últimos 30 años, el principal enfoque de las investigaciones sobre estos protozoos, especialmente en *Cryptosporidium*, se ha centrado en el conocimiento y control de las enfermedades que causan en el hombre y en el ganado (Cacciò y Widmer, 2014).

#### 3.1. En el hombre

*Giardia* y *Cryptosporidium* se encuentran entre los principales agentes causales de infecciones intestinales en el hombre. Así, la giardiosis y la cryptosporidiosis son enfermedades frecuentes y representan un problema de salud pública a nivel mundial, causando una morbilidad sustancial, especialmente en poblaciones socioeconómicamente débiles y en pacientes inmunocomprometidos. Desde el año 2004, ante el impacto que presentan estas enfermedades sobre el desarrollo socioeconómico de algunos países, la Organización Mundial de la Salud (OMS) incluyó a la giardiosis y a la cryptosporidiosis en la *Iniciativa de Enfermedades Desatendidas* (Savioli *et al.*, 2006).

Anualmente, se estiman en más de 500000 los nuevos casos de giardiosis reportados a nivel mundial y alrededor de 200 millones de personas, principalmente en África, Asia y Latinoamérica, padecen los síntomas de la infección, siendo *G. duodenalis* el parásito intestinal más frecuentemente diagnosticado en el



hombre (Abeywardena *et al.*, 2015). La giardiosis es una enfermedad autolimitada cuyos síntomas dependen del estado inmunitario del hospedador, pudiendo ser asintomática o causar procesos diarreicos graves, dolor e hinchazón abdominal, pérdida de peso y malabsorción intestinal, principalmente en la población infantil (Hill y Nash, 2011; Abeywardena *et al.*, 2015). Además, a pesar de que *Giardia* no está considerada como un patógeno oportunista, la prevalencia de la infección es ligeramente superior en pacientes VIH positivos. Igualmente, los casos asintomáticos también son muy frecuentes, especialmente en los países desarrollados (Feng y Xiao, 2011; Abeywardena *et al.*, 2015).

La cryptosporidiosis también se trata de una enfermedad autolimitada que causa procesos diarreicos, tanto en individuos inmunocompetentes como en pacientes inmunocomprometidos. Junto con la diarrea, entre otros síntomas se incluyen: dolor abdominal, náuseas, vómitos, fiebre transitoria, mialgia, anorexia y debilidad (Ryan e Hijawi, 2015). En personas inmunocomprometidas, la diarrea puede cronificarse y la infección extenderse a los tractos biliar y urinario e incluso a nivel pulmonar (Hunter y Nichols, 2002). En países en vías de desarrollo, se estima que *Cryptosporidium* es responsable del 30-50% de la mortalidad asociada a procesos diarreicos en niños menores de cinco años, representando la segunda causa de mortalidad infantil asociada a procesos diarreicos en estos países (Kotloff *et al.*, 2013; Striepen, 2013).

Ambas enfermedades presentan una distribución cosmopolita, cuya prevalencia varía dependiendo del área geográfica. En regiones en las que el nivel de salubridad es bajo y la pobreza elevada, estas parasitosis pueden presentar una incidencia elevada. Así, en países en vías de desarrollo, la prevalencia de la giardiosis varía entre 8-30% y la de la cryptosporidiosis entre 0-13,7%. Por el contrario, en los países industrializados, los datos de prevalencia oscilan entre 1-8% y 0,3-54,2% para la giardiosis y la cryptosporidiosis, respectivamente (Cacciò y Putignani, 2014; Cacciò, 2015). Además, la mayoría de los brotes infecciosos asociados a aguas recreativas o de bebida se han reportado en estos países, hecho que puede deberse a la existencia de sistemas de vigilancia de enfermedades infecciosas (Abeywardena *et al.*, 2015). En este sentido, más del 90% de los brotes hídricos documentados entre los años 2004-2010 tuvieron lugar en Australia, Norteamérica y Europa. *Giardia* estuvo implicada en el 35,2% de los brotes y *Cryptosporidium* en el 60,3% (Baldursson y Karanis, 2011). El brote de cryptosporidiosis que afectó a más de



403 000 personas en Milwaukee (Estados Unidos) en 1993 es numéricamente el más importante (Mac Kenzie *et al.*, 1994). En Europa, entre los casos más notables destaca un reciente brote de cryptosporidiosis por *Cryptosporidium hominis* que afectó a 27 000 personas en Östersund (Suecia) (Widerstrom *et al.*, 2014) y otro debido a *G. duodenalis* en el que se vieron perjudicadas 2 500 personas en Bergen (Noruega) (Nygård *et al.*, 2006).

La única especie del género *Giardia* que infecta al hombre es *G. duodenalis*, concretamente los genotipos A y B. Estudios de biología molecular demostraron que el genotipo B es el que se encuentra con más frecuencia en el hombre, considerándose un genotipo con carácter antroponómico. Sin embargo, aunque el genotipo A también se detecta habitualmente, este en general se asocia con infecciones en otros mamíferos y está ampliamente considerado como un genotipo con carácter zoonómico (Cacciò *et al.*, 2005). Dentro del genotipo A se distinguen cuatro subgenotipos (A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub> y A<sub>4</sub>), de los cuales el A<sub>1</sub> y el A<sub>2</sub> son los que se detectan en el hombre, siendo este último el más frecuente. De igual forma, el genotipo B también se subdivide en cuatro subgenotipos (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> y B<sub>4</sub>), identificándose los subgenotipos B<sub>3</sub> y B<sub>4</sub> en muestras humanas (Cacciò, 2015).

Por otro lado, entre las especies causantes de cryptosporidiosis, *C. hominis* y *C. parvum* son las más comunes, aunque casos de enfermedad humana también se han atribuido a *Cryptosporidium canis*, *Cryptosporidium felis* y *C. meleagridis* (Xiao y Feng, 2008). Además, se ha señalado a *Cryptosporidium cuniculus* como el responsable de un brote hídrico de cryptosporidiosis en el Reino Unido. Ocasionalmente, también se han descrito casos provocados por *Cryptosporidium andersoni*, *C. muris*, *Cryptosporidium suis*, *Cryptosporidium ubiquitum* y diferentes genotipos de este género (*deer*, *horse*, *chimpanzee* I) (Robinson *et al.*, 2008; Xiao y Feng, 2008; Chalmers *et al.*, 2011; Cacciò y Putignani, 2014; Ryan *et al.*, 2016b).

### 3.2. En animales domésticos y de compañía

Desde que los animales fueron domesticados y el hombre se hizo dependiente de los productos que estos generan, las infecciones que afectan a la sanidad y productividad de estos animales son motivo de constante preocupación. Como consecuencia, la mayoría de los datos existentes sobre la distribución y la prevalencia de las infecciones provocadas por *Giardia* y *Cryptosporidium* proceden

de estudios realizados principalmente en animales domésticos (Thompson *et al.*, 2008). Así, en el caso de las infecciones causadas por *Cryptosporidium* y una vez que se reconoció su importancia clínica, el estudio de la cryptosporidiosis en animales se ha extendido significativamente, sobre todo en el sector ganadero, ya que los rumiantes recién nacidos son los más afectados por esta enfermedad (Robertson *et al.*, 2014a).

La infección por *G. duodenalis* ha sido diagnosticada en las ganaderías bovina, ovina, caprina y porcina. La giardiosis suele adquirirse durante los primeros meses de vida, dando lugar a los síntomas característicos de la enfermedad, principalmente en situaciones de hacinamiento o deficiencia nutricional (Thompson, 2004; O'Handley y Olson, 2006). En animales adultos cursa asintóticamente, habiéndose comprobado un incremento en la excreción quística durante el parto, situación que favorece la adquisición de la infección por individuos neonatos (Castro-Hermida *et al.*, 2007). La prevalencia de la giardiosis en estas ganaderías varía dependiendo de la edad y del área geográfica de estudio. En bovinos, la prevalencia oscila entre 2,2-58,0%. En el ganado ovino, caprino y porcino, las infecciones por *Giardia* presentan prevalencias muy variables, oscilando entre 1,3-55,6%; 13,3-42,2%; 0,2-31,1% en ovejas, cabras y cerdos, respectivamente (ver Feng y Xiao, 2011).

La caracterización molecular de los aislados obtenidos demostró que el genotipo E de *G. duodenalis* es el identificado con mayor frecuencia en estos animales a nivel mundial (Thompson *et al.*, 2008; Xiao y Fayer, 2008; Feng y Xiao, 2011). Sin embargo, en ganado bovino de Nueva Zelanda, este genotipo está ausente, detectándose los genotipos A y B (Feng y Xiao, 2011). También, cada vez es más habitual detectar el genotipo A en estos animales, indicativo de la amplia dispersión que presenta este genotipo de carácter zoonótico, incluso superior a la considerada inicialmente (Ryan y Cacciò, 2013). Dentro de este genotipo A, el subtipo A<sub>1</sub> es el predominante en este grupo de animales (Sprong *et al.*, 2009; Feng y Xiao, 2011; Ryan y Cacciò, 2013).

En Galicia, diversos estudios realizados en el Laboratorio de Parasitología del Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (CIAM, Xunta de Galicia) demostraron que las prevalencias de la giardiosis en el ganado bovino oscilan entre un 32,1% en animales menores de un mes y un 26,6% en adultos. Además, valores

de prevalencia de 19,2% y 19,8% se detectaron en ovejas y cabras, respectivamente. En los tres tipos de ganadería, predominó el genotipo E, si bien se identificó el genotipo A en terneros y el genotipo B en ovejas (Castro-Hermida *et al.*, 2007).

Las especies de *Cryptosporidium* que infectan al ganado bovino son principalmente cuatro: *C. andersoni*, *Cryptosporidium bovis*, *C. parvum* y *Cryptosporidium ryanae* (Santín y Trout, 2008; Robertson *et al.*, 2014a). *C. parvum* es la especie que presenta un rango de hospedadores más amplio, mientras que las tres restantes se han encontrado casi con exclusividad en estos animales. Además, también se ha detectado ocasionalmente la presencia de *C. felis*, *C. hominis*, *Cryptosporidium scrofarum*, *Cryptosporidium serpentis* y *C. suis* (Bornay-Llinares *et al.*, 1999; Santín *et al.*, 2004; Smith *et al.*, 2005; Geurden *et al.*, 2006; Langkjaer *et al.*, 2007; Chen y Huang, 2012). Numerosos estudios pusieron de manifiesto que las infecciones por *Cryptosporidium* spp. en esta ganadería son comunes a nivel mundial y están generalmente asociadas con la edad del hospedador, siendo *C. parvum* la especie responsable del 80% de las infecciones en terneros lactantes (Robertson *et al.*, 2014a). Las infecciones causadas por las especies de *Cryptosporidium* propias del ganado bovino no se asocian habitualmente con enfermedad. Por el contrario, las originadas por *C. parvum* se consideran una importante causa de diarrea en animales jóvenes, a veces acompañada de letargo, inapetencia, fiebre, deshidratación y/o retraso en el crecimiento (Blanchard, 2012). Generalmente, los individuos se recuperan al cabo de 1-2 semanas, pero en algunos casos la infección puede ser mortal al coexistir con otros agentes infecciosos (Santín, 2012).

En Galicia, la cryptosporidiosis bovina presenta un carácter endémico, como demuestran diversos estudios realizados en esta región. Así y tan solo analizando una única muestra fecal mediante un examen directo, se comprobó que los valores de prevalencia oscilaron entre el 47,9% y el 62,2% en animales menores de un mes. Este valor podría alcanzar el 100% si se tomase un mayor número de muestras por individuo, como se demostró en un estudio realizado en una cohorte de terneros recién nacidos, estabulados independientemente y mantenidos bajo unas buenas condiciones higiénico-sanitarias (Castro-Hermida *et al.*, 2002a,b, 2011a; Soilán López, 2014). Aunque la infección también se detectó en otros grupos de edad, su prevalencia disminuyó significativamente con la misma, alcanzando valores en torno al 8% en individuos adultos de 7-8 años (Castro-Hermida *et al.*, 2006, 2011a). La caracterización molecular de los aislados permitió identificar a *C. parvum* en la

mayoría de los casos, detectándose también la presencia de *C. andersoni* y *C. bovis* (Castro-Hermida *et al.*, 2011a; Soilán López, 2014).

Por otra parte, los datos relativos a la distribución e incidencia de la cryptosporidiosis en pequeños rumiantes, aunque son menos abundantes, confirman la amplia difusión de la infección en explotaciones ovinas y caprinas, identificando a *C. parvum* como uno de los principales enteropatógenos asociados a la diarrea neonatal en ambas especies y ocasionando altas tasas de morbilidad y mortalidad. En corderos se han descrito prevalencias que oscilan entre 0-77%, pudiendo alcanzar el 100% en algunas granjas. Los valores de prevalencia en cabritos son también variables, dependiendo de la zona geográfica (0-100%), con tasas de mortalidad que pueden alcanzar el 60% (Sevá *et al.*, 2010; Drumo *et al.*, 2012; Robertson *et al.*, 2014a).

En el ganado ovino se han identificado varias especies y genotipos de *Cryptosporidium*, siendo *C. parvum*, *C. ubiquitum* y *Cryptosporidium xiaoi* las especies más comunes. Esporádicamente, se han atribuido infecciones a *C. andersoni*, *Cryptosporidium fayeri*, *C. hominis*, *C. scrofarum*, *C. suis* y diversos genotipos (Chalmers *et al.*, 2005; Karanis *et al.*, 2007; Sweeny *et al.*, 2011; Robertson *et al.*, 2014a). Por el contrario, los estudios moleculares en el ganado caprino son escasos, detectándose las especies *C. parvum* y *C. xiaoi* (Karanis *et al.*, 2007; Drumo *et al.*, 2012; Robertson *et al.*, 2014a).

En Galicia, están descritas prevalencias en torno al 30-40% en corderos y, tan solo, de un 5% en ovejas. *C. parvum* fue la especie más prevalente, aunque también se identificó *C. ubiquitum*. En el ganado caprino, las prevalencias de infección alcanzan el 62,7% en cabritos, mientras que en animales adultos no superan el 7,7%. En esta ganadería, predominó la infección por *C. parvum*, aunque también se identificó la especie *C. xiaoi* (Castro-Hermida *et al.*, 2011a; Soilán López, 2014).

La infección por *Cryptosporidium* en el ganado porcino está descrita prácticamente en todo el mundo, aunque no ha sido investigada con tanta profundidad como en el caso de los rumiantes domésticos. Diversos estudios sugieren que es una parasitosis prevalente en este tipo de ganadería, con valores que oscilan entre 0-87,5%, dependiendo de la región geográfica y de las prácticas ganaderas (Quílez *et al.*, 1996; Vítovec *et al.*, 2006; Robertson *et al.*, 2014a). Los estudios de caracterización molecular demostraron que los cerdos son receptivos a

la infección por *C. muris* y *C. parvum*, además de presentar las especies exclusivas de este hospedador, *C. suis* y *C. scrofarum* (Ryan *et al.*, 2004; Zintl *et al.*, 2007; Kváč *et al.*, 2013). Suelen ser infecciones asintomáticas, a excepción de las causadas por *C. parvum*, que al igual que sucede en otras ganaderías, pueden originar diarrea o incluso ser mortal en algunos casos (Robertson *et al.*, 2014a). En Galicia se carece de datos al respecto, a excepción de la denuncia de la infección detectada en tres animales menores de dos meses pertenecientes a una misma camada (Villacorta *et al.*, 1991).

Los estudios sobre *Giardia* en aves domésticas son muy escasos y la mayoría consisten en casos puntuales reportados principalmente en aves exóticas mantenidas en cautividad (Chilvers *et al.*, 1998; Acosta *et al.*, 2008). Pese a existir dos especies de este género propias de las aves, *G. ardeae* y *G. psittaci*, recientes hallazgos demuestran la presencia de los genotipos A y B de *G. duodenalis* en anseriformes domésticas con prevalencias que varían entre 0,1-24% (Majewska *et al.*, 2009; Plutzer y Tomor, 2009).

Por otro lado, la cryptosporidiosis es una de las principales infecciones causadas por protozoos en aves, con signos clínicos asociados a los tractos respiratorio y gastrointestinal, pudiendo causar mortalidad. *Cryptosporidium* está considerado como un patógeno emergente, responsable de numerosas infecciones de importancia clínica en este grupo de animales, en el que se han descrito tres especies propias: *Cryptosporidium baileyi*, que infecta el tracto respiratorio, la bolsa de Fabricio y la cloaca; *Cryptosporidium galli*, localizada en el proventrículo; y, *C. meleagridis*, que infecta principalmente las células epiteliales del intestino (Ryan y Xiao, 2007; Ryan, 2010). Esta última especie presenta también la capacidad de parasitar a mamíferos, incluyendo al hombre, por lo que se considera de importancia en salud pública, ante su carácter zoonótico (Wang *et al.*, 2014b). En pollos y gallos se han detectado diferentes prevalencias, variando entre 3,4-46,2%, dependiendo de la localización geográfica. En este hospedador se identificaron *C. baileyi*, *C. meleagridis* y el genotipo *avian V*, recientemente validado como la especie *C. avium* (Robertson *et al.*, 2014a; Wang *et al.*, 2014a; Holubová *et al.*, 2016). En pavos, se han detectado infecciones causadas por *C. meleagridis*, con valores de prevalencia de hasta un 60% en individuos de 16-30 días de edad (Baroudi *et al.*, 2013). Además, se han identificado *C. baileyi* y *C. meleagridis* en granjas de codornices (Wang *et al.*, 2012), y *C. meleagridis* en una granja cinegética de perdiz roja (Pagès-Manté *et al.*, 2007).

Finalmente, se han detectado *C. galli*, *C. parvum*, *C. muris* y distintos genotipos aviares en diversas especies de aves de parques zoológicos y en aves exóticas utilizadas con fines comerciales (Ng *et al.*, 2006; Zylan *et al.*, 2008; Nakamura *et al.*, 2009; Qi *et al.*, 2011; Gomes *et al.*, 2012; Nakamura y Meireles, 2015).

Las infecciones por *Giardia* y *Cryptosporidium* también han sido descritas ocasionalmente en otros animales de granja. En caballos, se han identificado los genotipos A, B y E de *G. duodenalis*, además de *C. parvum* y otros genotipos de *Cryptosporidium* (*horse* y *hedgehog*) (Traub *et al.*, 2005; Traversa *et al.*, 2012; Laatumna *et al.*, 2013). En conejos, se han detectado el genotipo B de *G. duodenalis* y las especies *C. cuniculus*, *C. meleagridis* y *C. parvum* (Nolan *et al.*, 2010; Robinson y Chalmers, 2010; Zhang *et al.*, 2012). En visón americano (*N. vison*), animal muy valorado en la industria peletera y explotado ampliamente en determinadas zonas de Galicia, se han identificado los genotipos *ferret* y *mink* de *Cryptosporidium* (Gómez-Couso *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2008).

Con respecto a los animales de compañía, *Giardia* se encuentra comúnmente en perros, tanto asintomáticos como sintomáticos, con un valor medio de prevalencia de 15,2% (Ballweber *et al.*, 2010; Bouzid *et al.*, 2015). En perreras, la mayoría de los hallazgos se corresponden con los genotipos específicos C y D de *G. duodenalis* (García Verde, 2010; Beck *et al.*, 2012; Pallant *et al.*, 2015), mientras que en ambientes domésticos, también se ha encontrado el genotipo A, con predominio del subtipo A<sub>1</sub> (Sprong *et al.*, 2009). En gatos, la prevalencia media de la giardiosis se estima en un 12% (Bouzid *et al.*, 2015), detectándose más frecuentemente el genotipo F de *G. duodenalis*, además del genotipo A (Feng y Xiao, 2011; Pallant *et al.*, 2015).

La mayoría de las infecciones causadas por *Cryptosporidium* en animales de compañía son asintomáticas, aunque se han reportado casos graves en perros y gatos (Santín y Trout, 2007). En perros, la especie de *Cryptosporidium* que se encuentra con mayor frecuencia es *C. canis* (García Verde, 2010), aunque también se han descrito infecciones por *C. meleagridis*, *C. muris* y *C. parvum* (Kváč *et al.*, 2014b), detectándose mayores prevalencias cuando coexiste con *Giardia* (Bajer *et al.*, 2011). Además, se ha comprobado que la prevalencia de la cryptosporidiosis es mayor en individuos con diarrea y con edades inferiores al año de vida (Mirzaei, 2012). En gatos, se ha detectado principalmente la infección por *C. felis*, aunque en ciertos casos se ha encontrado también *C. muris* (Pedraza-Díaz *et al.*, 2001; Cacciò, 2005).



### 3.3. En fauna salvaje

*Giardia* se detectó en numerosas especies de mamíferos, tanto en cautividad como en libertad, siendo escasa la información existente sobre las especies y genotipos que se encuentran de forma natural en estos hospedadores. La especie de *Giardia* descrita con mayor frecuencia en estos animales es *G. duodenalis*, concretamente los genotipos A y B (Ryan y Cacciò, 2013). Así, diversos estudios realizados en Europa constataron la presencia de estos genotipos en el 74% de los casos referidos (Sprong *et al.*, 2009; Feng y Xiao, 2011). Por otro lado, diferentes especies y genotipos de *Cryptosporidium* se identificaron en 13 de los 21 órdenes de mamíferos salvajes pero, al igual que sucede con *Giardia*, los estudios en individuos que habitan en el medio natural son limitados en comparación con los que viven en cautividad (Kvác *et al.*, 2014b).

Entre los grandes rumiantes, los cérvidos son los que han recibido una mayor atención. Así, en diferentes estudios realizados a nivel mundial se han identificado el genotipo A, concretamente los subgenotipos A<sub>1</sub> y A<sub>3</sub>, y el genotipo B de *G. duodenalis*, con prevalencias que oscilan desde un 1,1% en ciervos de Croacia hasta un 23% en corzos de Polonia. Sorprendentemente, el genotipo E, propio de artiodáctilos, se identificó con prevalencias muy bajas en estos hospedadores (Lalle *et al.*, 2007; Robertson *et al.*, 2007; Lebbad *et al.*, 2010; Beck *et al.*, 2011b; Solarczyk *et al.*, 2012; Santín y Fayer, 2015; Stojek *et al.*, 2015). A nivel global, están descritos *C. parvum*, *C. ubiquitum*, *C. muris* y el genotipo deer de *Cryptosporidium* en numerosas especies de cérvidos, con prevalencias muy variables (0,3-41%) (Kvác *et al.*, 2014b; Santín y Fayer, 2015; Kotková *et al.*, 2016). En Galicia, se han realizado diversos trabajos sobre *Giardia* y *Cryptosporidium* en corzos salvajes, obteniendo prevalencias que oscilan entre 5,3-13,6% y 1,3-11,3% para *Giardia* y *Cryptosporidium*, respectivamente. En estos animales se identificó el genotipo A<sub>2</sub> de *G. duodenalis*, además de *C. bovis* y *C. ryanae* (Castro-Hermida *et al.*, 2011a,b; García-Presedo *et al.*, 2013b).

Con respecto a los cánidos salvajes, se identificaron los genotipos A y B de *G. duodenalis* en zorros de Europa y Australia, en coyotes de América y en licaones de África, mientras que los genotipos propios de estos hospedadores (C y D) se detectaron con muy baja prevalencia, a excepción de un reciente estudio en lobos de Polonia, en los que se identificó el genotipo D en el 29% de las muestras positivas (Trout *et al.*, 2006; McCarthy *et al.*, 2008; Ash *et al.*, 2010; Beck *et al.*, 2011b, 2012;

Stojecki *et al.*, 2015). Igualmente, se reportó la presencia de *C. canis* y *C. parvum* en zorros de la República Checa (38,7%) y en lobos de Polonia (54,9%), respectivamente (Sturdee *et al.*, 1999; Hamnes *et al.*, 2007; Paziewska *et al.*, 2007; Ravaszova *et al.*, 2012).

Entre los mustélidos salvajes, se observaron quistes de *Giardia* sp. en tejón y se identificó el subgenotipo A<sub>1</sub> de *G. duodenalis* en hurones utilizados como mascotas (Abe *et al.*, 2005; Pantchev *et al.*, 2014; Stojecki *et al.*, 2015). Por otra parte, ooquistes de *Cryptosporidium* sp., además de diversos genotipos de este género (*skunk*, *mink*, *shrew*) se reportaron en nutrias, tejones, hurones, visones, armiños y mofetas en varios países (Estados Unidos, Reino Unido y Polonia) (Sturdee *et al.*, 1999; Feng *et al.*, 2007; Ziegler *et al.*, 2007a; Oates *et al.*, 2012). En Galicia, se detectó la presencia de *Giardia* sp. y *Cryptosporidium* sp. en nutrias (*L. lutra*), con prevalencias de 6,8% y 3,9%, respectivamente (Méndez-Hermida *et al.*, 2007).

La información existente sobre *Giardia* en mamíferos insectívoros es también escasa, reportándose su presencia en erizos de Nueva Zelanda (Chilvers *et al.*, 1998). Recientemente, se identificó el genotipo A de *G. duodenalis* en estos hospedadores, alcanzando una prevalencia del 10% (Krawczyk *et al.*, 2015). Por el contrario, *Cryptosporidium* spp. se detectaron en diferentes especies de topos, musarañas y erizos, mostrando en algunos casos signos claros de infección (Sturdee *et al.*, 1999; Torres *et al.*, 2000; Ziegler *et al.*, 2007a). Concretamente, en erizos se obtuvieron prevalencias de 8%, 9% y 30% en Gran Bretaña, Holanda y Alemania, respectivamente, identificándose *C. parvum* y el genotipo *hedgehog* (Dyachenko *et al.*, 2010; Krawczyk *et al.*, 2015; Sangster *et al.*, 2016).

Por otro lado, en roedores se identifican con mayor frecuencia *G. microti* y el genotipo G de *G. duodenalis*, específicos de este grupo de animales, aunque los genotipos zoonóticos de *G. duodenalis* (A y B) también se identificaron en ratas alimzcleras, castores y ardillas (Feng y Xiao, 2011; Fernández-Álvarez *et al.*, 2014). Las especies de *Cryptosporidium* que más frecuentemente se detectan en estos hospedadores son *C. muris* y *C. parvum*. Asimismo, se ha reportado la presencia de *C. scrofarum* y *Cryptosporidium tyzzeri* en miembros de la familia Muridae y de *C. andersoni* y *C. ubiquitum* en individuos de las familias Sciuridae y Cricetidae (Torres *et al.*, 2000; Kváč *et al.*, 2014b; Perec-Matysiak *et al.*, 2015).



El conocimiento de las infecciones causadas por *Giardia* y *Cryptosporidium* en la fauna que habita el medio marino es muy limitado. En peces y tiburones de Australia y de la costa oeste de Norteamérica, se detectaron los genotipos zoonóticos A y B de *G. duodenalis* (Lasek-Nesselquist *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2010; Ghoneim *et al.*, 2012), así como *C. parvum* y *C. xiaoi* en peces de Australia (Reid *et al.*, 2010; Koinari *et al.*, 2013).

Con respecto a los mamíferos marinos, los estudios más abundantes son los realizados en pinnípedos. Las prevalencias obtenidas para *Giardia* en este grupo de animales son muy variables y oscilan entre 0-80% en focas de Canadá (Dixon *et al.*, 2008; Appelbee *et al.*, 2010); 0-62,9% en focas y leones marinos de ambas costas de Estados Unidos (Deng *et al.*, 2000; Bogomolni *et al.*, 2008; Lasek-Nesselquist *et al.*, 2008, 2010); y, 2,8-23,8% en leones marinos de Australia (Delpont *et al.*, 2014). En estos hospedadores, los genotipos zoonóticos A y B de *G. duodenalis* son los más frecuentemente identificados, aunque también se ha reportado la presencia de los genotipos propios de cánidos (C y D) en focas de Estados Unidos (Gaydos *et al.*, 2008), así como del genotipo H, propio de estas especies (Lasek-Nesselquist *et al.*, 2010). Además, en cetáceos se han descrito valores de prevalencia de 33,3% y 71,4% en dos especies de mysticetos de Alaska (*Balaena mysticetus* y *Eubalaena glacialis*, respectivamente) (Hughes-Hanks *et al.*, 2005), algunos casos en diversas especies de delfines y marsopas de Estados Unidos (Bogomolni *et al.*, 2008) y en el delfín del Indo-Pacífico (*Tursiops aduncus*) en el Mar Rojo (Kleinertz *et al.*, 2014), además de un caso esporádico en un delfín estuarino (*Sotalia guianensis*) en Brasil (Altieri *et al.*, 2007). La caracterización molecular de los aislados permitió identificar los genotipos A y B en algunas especies (Lasek-Nesselquist *et al.*, 2008). De forma similar, *Cryptosporidium* spp. se han detectado en focas y otros mamíferos marinos, con prevalencias que oscilan entre 5,1-24,5% en ballenas y 4,2-22,6% en focas de Norteamérica (Hughes-Hanks *et al.*, 2005; Santín *et al.*, 2005; Bogomolni *et al.*, 2008; Bass *et al.*, 2012); valores de 1,9% en leones marinos del continente Antártico (Rengifo-Herrera *et al.*, 2011); 3,2% en delfines del Mar Rojo (Kleinertz *et al.*, 2014), además de un caso esporádico en delfín manchado del Atlántico (*Stenella frontalis*) en Venezuela (Arias León *et al.*, 2008). Los estudios de caracterización molecular permitieron detectar la presencia de *C. muris* en foca anillada (*Phoca hispida*) en Canadá, además de la identificación de nuevos genotipos de *Cryptosporidium* en varias especies de pinnípedos (Santín *et al.*, 2005; Bass *et al.*, 2012; Rengifo-Herrera *et al.*, 2013).

También es limitada la información existente sobre la presencia de ambos protozoos parásitos en aves. Aunque las especies propias de este grupo son *G. ardeae* y *G. psittaci* (Ryan y Cacciò, 2013), en aves salvajes, concretamente en anátidas, tan solo se han reportado la detección de los genotipos zoonóticos A y B de *G. duodenalis* (Kuhn *et al.*, 2002; Graczyk *et al.*, 2008; Majewska *et al.*, 2009; Cano *et al.*, 2016). Con respecto a *Cryptosporidium*, ooquistes de diferentes especies de este género se detectaron en aves acuáticas pertenecientes a los órdenes Ciconiiformes, Pelecaniformes y Phoenicopteriformes en Europa y en Anseriformes en diferentes áreas de Europa y Norteamérica, con prevalencias que oscilan entre 5,8-49,0% dependiendo del grupo estudiado y de la zona geográfica. También está descrita la presencia de *C. parvum* en Gruiformes en Hungría (Kuhn *et al.*, 2002; Papazahariadou *et al.*, 2008; Majewska *et al.*, 2009; Plutzer y Tomor, 2009). De igual forma, quistes de *Giardia* spp. y ooquistes de *Cryptosporidium* sp. se detectaron en aves acuáticas en Grecia, concretamente en flamencos, cisnes, gaviotas y charranes (Papazahariadou *et al.*, 2008). Dentro del orden Passeriformes, ooquistes de *Cryptosporidium* spp. se observaron en muestras fecales de córvidos en Hungría y *C. baileyi* y *C. galli* se identificaron en aves capturadas en Brasil (Plutzer y Tomor, 2009; Sevá *et al.*, 2011). Con respecto a los diferentes órdenes de aves de presa (Accipitriformes, Falconiformes y Strigiformes), se reportaron casos de infección por *C. baileyi* en Estados Unidos y Europa, incluyéndose un caso descrito en España en el que se vieron afectados varios ejemplares de autillo europeo (*Otus scops*), que desarrollaron enfermedad respiratoria y ocular asociada a la infección (van Zeeland *et al.*, 2008; Molina-López *et al.*, 2010; Bougiouklis *et al.*, 2013). También, se detectó la presencia de *Giardia* spp. y *Cryptosporidium* spp. en diversas especies de aves rapaces en Estados Unidos y Grecia (Papazahariadou *et al.*, 2008; Coulson *et al.*, 2010). En España, *C. hominis* se identificó en palomas urbanas (*Columba livia*) de Santa Cruz de Tenerife (Abreu-Acosta *et al.*, 2009) y, recientemente, en muestras de anátidas recogidas en el parque de Salburua (Vitoria-Gasteiz) se identificaron varios genotipos aviares de *Cryptosporidium* con una prevalencia del 2,3% (Cano *et al.*, 2016).

Los datos existentes sobre *Cryptosporidium* en reptiles se encuentran completamente sesgados hacia especies que viven en cautividad. En estos animales, la cryptosporidiosis es una enfermedad común, generalmente sintomática y que puede llegar a ser muy grave (Deming *et al.*, 2008; Pasmans *et al.*, 2008). Dos especies infectan a estos hospedadores, *C. serpentis* en el epitelio gástrico y

*Cryptosporidium varanii* en el epitelio intestinal (Graczyk, 2007; Ryan *et al.*, 2014), aunque también se describió, en diferentes especies de ofidios, la presencia de *C. tyzzeri*, *C. muris* y otros genotipos de *Cryptosporidium* propios de roedores (Xiao *et al.*, 2004; Díaz *et al.*, 2013).

Sin embargo, el conocimiento sobre *Giardia* en estos animales es muy deficiente. Aunque numerosos autores consideran que los reptiles son hospedadores de *Giardia*, no se han encontrado citas bibliográficas al respecto, con excepción de dos referencias a especies que actualmente no se consideran válidas, *Giardia serpentis* en una víbora (*Causus rhombeatus*) y *G. varani* en el varano del Nilo (*Varanus niloticus*) (Thompson *et al.*, 1990) y, la descripción posterior de un flagelado similar a *G. varani* en un varano acuático (*Varanus salvator*) en Malasia, aislado que no se caracterizó molecularmente (Upton y Zien, 1997).

La presencia de *Giardia* y *Cryptosporidium* también se investigó en animales de parques zoológicos en diferentes países, detectándose la presencia de ambos parásitos en diversas especies. Así, en primates, la prevalencia para *Giardia* spp. suele ser elevada, destacando valores de 41,0% en simios en Bélgica, de 47,0% en lemures en Italia y de 50,0% en diferentes especies de primates en Croacia, identificándose comúnmente en ellos el genotipo B de *G. duodenalis* (Levecke *et al.*, 2007; Beck *et al.*, 2011a; Berrilli *et al.*, 2011). También en Croacia, se ha constatado la presencia de *Giardia* en felinos, osos, coatíes, roedores, lobos y artiodáctilos, identificándose el genotipo A con mayor frecuencia entre estos animales, además de otros genotipos propios de cada grupo (Beck *et al.*, 2011a). De forma similar, la presencia de *Giardia* y *Cryptosporidium* se investigó en parques zoológicos de Polonia, detectándose quistes de *Giardia* spp. en osos hormigueros, roedores, primates y artiodáctilos y ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en jirafas, ardillas y anátidas (Bajer, 2008). Además, en muestras recogidas en un zoo de Japón se observaron quistes de *Giardia* en anátidas y ooquistes de *Cryptosporidium* en heces de mapaches (Matsubayashi *et al.*, 2005).

En parques zoológicos de España, concretamente en Madrid y Valencia, se observó que el 70% de las muestras de primates analizadas resultaron positivas para *Giardia*, revelándose la presencia de los genotipos zoonóticos A y B de *G. duodenalis* (Martínez-Díaz *et al.*, 2011). También, *Cryptosporidium* spp. se observó en muestras de primates y herbívoros del zoo de Barcelona y en artiodáctilos del

parque zoológico de Almuñécar (Gómez *et al.*, 2000; Gracenea *et al.*, 2002; Pérez Cordon *et al.*, 2008).

### 3.4. Transmisión de las formas infectantes

Las formas infectantes de *Giardia* y *Cryptosporidium* presentan ciertas características comunes que determinan la transmisión de las infecciones que ocasionan: (1) el pequeño tamaño de los quistes/ooquistes y su baja gravedad específica, que facilitan su dispersión a través del agua; (2) la capacidad de permanecer infectantes durante largos periodos de tiempo, especialmente en ambientes húmedos y fríos; (3) la resistencia elevada a la mayoría de los desinfectantes utilizados comúnmente en el tratamiento de las aguas; (4) el amplio rango de hospedadores que presentan; (5) la capacidad para multiplicarse en un único hospedador, que elimina, durante largos periodos de tiempo, grandes cantidades de formas parasitarias ya infectantes para otro hospedador susceptible; y, (6) la baja dosis mínima infectante (<10 quistes/ooquistes) (Fayer, 2004; Gajadhar y Allen, 2004; Hunter y Thompson, 2005; Smith y Nichols, 2006; Smith *et al.*, 2006; Thompson y Smith, 2011).

Las rutas a través de las cuales los quistes/ooquistes son transmitidos entre hospedadores son numerosas e incluyen los principales mecanismos de transmisión de los patógenos intestinales. Sin embargo, las especies de *Giardia* y *Cryptosporidium* se diferencian de otros enteropatógenos por su incapacidad para multiplicarse fuera del hospedador. Por tanto, las rutas de transmisión son el contacto directo hombre-hombre, animal-animal, animal-hombre, o indirecto a través del agua, alimentos y posiblemente por inhalación de aire (Nichols, 2007).

Al transmitirse ambos parásitos por la ruta fecal-oral, la prevalencia de la giardiosis y de la cryptosporidiosis está correlacionada con el nivel de higiene ambiental. Así, bajos niveles de saneamiento conducirán a la contaminación fecal del agua y de los alimentos, lo que favorecerá la transmisión de ambos patógenos. La correcta eliminación de los residuos fecales generados en las grandes explotaciones ganaderas y el tratamiento de las aguas residuales urbanas son motivos de preocupación en los países desarrollados ante el alto riesgo de contaminación ambiental, no solo del agua de consumo, sino también de aguas empleadas para el riego de diversos tipos de cultivo. De igual forma, el comercio

global puede facilitar la transmisión de ambas enfermedades parasitarias a través del consumo de alimentos contaminados, especialmente de aquellos procedentes de regiones donde las aguas residuales se utilizan para el riego agrícola (Gajadhar y Allen, 2004).

Por otro lado, la transmisión de muchos agentes infecciosos está íntimamente ligada a las condiciones climáticas. Los factores ambientales pueden afectar directamente a la supervivencia de las formas infectantes y a su dispersión a través del agua, de los alimentos o del ambiente (Patz *et al.*, 2000; Lafferty, 2009; Rosenthal, 2009; Polley *et al.*, 2010). El cambio climático puede variar los límites y la distribución espacial de diferentes especies y, consecuentemente, alterar las relaciones parásito-hospedador e incluso los ciclos vitales de los organismos implicados y la virulencia de los patógenos (Polley *et al.*, 2010). Así, durante la última década, el calentamiento global ha originado cambios en la prevalencia e intensidad de algunas enfermedades infecciosas (Brooks y Hoberg, 2007; Altizer *et al.*, 2013). Aunque los efectos del clima y sus alteraciones se estudiaron de forma superficial en especies parásitas, parece probable que los protozoos se encuentren entre los organismos más susceptibles a estos cambios (Polley y Thompson, 2009). Concretamente, los estados infectantes de *Giardia* y *Cryptosporidium* están directamente expuestos al medio ambiente durante prolongados periodos de tiempo, por lo que las variaciones experimentadas en los valores de temperatura, en las precipitaciones, en la estacionalidad climática o en el uso del suelo derivado de las prácticas agrarias pueden influir en la incidencia de la giardiosis y la cryptosporidiosis, tanto en el hombre como en animales domésticos y salvajes (Lal *et al.*, 2013).

En general, se observa una relación positiva entre los valores de temperatura ambiental y la incidencia de la cryptosporidiosis y, por consiguiente, de la giardiosis. Las temperaturas más cálidas pueden prolongar la supervivencia de las formas de resistencia (King y Monis, 2007), facilitar la transmisión a través de vectores mecánicos sensibles al incremento de las temperaturas, como las moscas (Conn *et al.*, 2007), o favorecer las oportunidades de contacto entre el agente patógeno y el hospedador (Semenza y Menne, 2009). Además, los cambios experimentados en los niveles de precipitación también influyen en la transmisión de ambas parasitosis. Así, un incremento en la pluviosidad puede favorecer la aparición de fenómenos de escorrentía, originando la resuspensión de las formas infectantes depositadas en campos de cultivo, que contaminan los cursos de agua (Atherholt *et al.*, 1998;

Tryland *et al.*, 2011). Por el contrario, los episodios de sequía y las elevadas temperaturas favorecen la desecación e incrementan las tasas de inactivación de las formas infectantes, provocando un descenso en el riesgo de adquirir ambas infecciones (Lal *et al.*, 2013).

La estructura del paisaje y la alteración del hábitat también pueden desempeñar un papel importante en la transmisión de estas parasitosis, incrementando o disminuyendo el riesgo de adquirir las infecciones al determinar el grado de interconexión física entre diversos sistemas ecológicos (Salzer *et al.*, 2007; Wilkes *et al.*, 2011). Así, la pérdida y fragmentación del hábitat también podrían reducir la conectividad entre ciertas poblaciones, disminuyendo el riesgo de transmitir las enfermedades (Bates *et al.*, 2007). Teniendo en cuenta que los rumiantes domésticos se consideran el principal reservorio y fuente de contaminación para *Giardia* y *Cryptosporidium*, existe una relación positiva entre el nivel de actividad ganadera de una determinada zona y la incidencia de ambas parasitosis, especialmente en el caso de la cryptosporidiosis (Jagai *et al.*, 2010). Además, el uso agrario del suelo modifica la estructura del paisaje y el funcionamiento de los ecosistemas acuáticos, repercutiendo en el transporte de las formas parasitarias, que pueden ser arrastradas hacia los cursos de agua (Lal *et al.*, 2013; Abeywardena *et al.*, 2015).

Finalmente, la existencia de determinados organismos acuáticos que captan y concentran las formas de resistencia de estos enteropatógenos puede favorecer la transmisión de ambas enfermedades parasitarias. Así, se demostró que ciertos invertebrados, como los moluscos bivalvos, acumulan cantidades significativas de formas infectantes en sus órganos (Fayer *et al.*, 2004; Gómez-Couso *et al.*, 2004; Gómez-Couso y Ares-Mazás, 2012). También, las aves acuáticas y migratorias pueden contribuir a la amplia distribución de estos parásitos en el ambiente, al actuar como diseminadoras de las formas infectantes presentes en medios hídricos, sin llegar a padecer la infección (Graczyk *et al.*, 2008; Cano *et al.*, 2016).



Zoonosis y salud compartida





## 1. Las enfermedades emergentes y reemergentes

Según la OMS, se consideran enfermedades emergentes aquellas cuya incidencia en el ser humano se ha incrementado en los dos últimos decenios o amenaza con aumentar en un futuro próximo. Además, el concepto de enfermedad reemergente hace referencia a la reaparición de aquellos procesos morbosos después de una disminución importante de su incidencia (OMS, 1995).

La emergencia de una enfermedad puede ser debida a varios factores: a la propagación de un nuevo patógeno, al reconocimiento de una enfermedad que ha estado presente en una población pero que no había sido detectada o al descubrimiento del origen infeccioso de una enfermedad ya conocida. En el caso de las zoonosis de origen parasitario, la emergencia se puede referir a la aparición de un nuevo parásito común a los animales y que cause enfermedad en el hombre; a una nueva asociación causal entre una enfermedad y un patógeno; al establecimiento de una nueva ruta de transmisión entre un parásito y sus potenciales hospedadores; o, a la aparición de una enfermedad ya conocida en una nueva localización geográfica (Polley, 2005).

La transmisión de los agentes patógenos entre las diferentes especies de seres vivos es fruto de las relaciones entre estas y el ambiente. Por tanto, las enfermedades emergentes podrían considerarse como la consecuencia natural de la evolución y ecología de los patógenos, que tratan de explotar nuevos nichos y adaptarse a nuevos hospedadores. Aunque la supervivencia de los organismos patógenos se sigue basando en los mismos principios que en el pasado, la población humana ha cambiado el entorno en el que actúan, creando o proporcionando acceso a nuevos nichos e influyendo así sobre la dinámica evolutiva parásito-hospedador (Altizer *et al.*, 2013; Vander Wal *et al.*, 2014).

Los factores que determinan la aparición de una enfermedad emergente/reemergente se pueden clasificar atendiendo al entorno en el que se presentan: el ambiente en el que vive el hombre (urbano, periurbano o rural), el sistema

agropecuaria y el ecosistema natural propiamente dicho. En el primero, la extensa urbanización, la alta densidad de población, los cambios en las demandas de consumo, el aumento de la movilidad y el comercio a escala global, la pobreza y los sistemas de salud pública son circunstancias que pueden determinar la emergencia de una enfermedad. Por otro lado, en el sistema de producción agropecuaria, el número y la concentración de explotaciones ganaderas, la estrecha relación entre el hombre y el ganado, el crecimiento en las exportaciones de productos de origen animal, los sistemas de agricultura intensiva y la sanidad animal son factores a tener en cuenta. Por último, en los ecosistemas naturales, los efectos de la colonización humana, la deforestación, el furtivismo y el tráfico ilegal de especies, además del cambio climático, son circunstancias que pueden desencadenar una fragmentación del hábitat, afectando a la transmisión y emergencia de las enfermedades. Como consecuencia de todos estos factores, la emergencia de organismos patógenos de diferente origen se está incrementando a nivel mundial (Banco Mundial, 2010; Gortazar *et al.*, 2014). Así, la transmisión zoonótica de patógenos que históricamente eran casi exclusivos de los animales es consecuencia de la modificación en las interacciones y, por tanto, del incremento de oportunidades de transmisión entre el hombre y los animales (Wolfe *et al.*, 2007).

## 2. Un mundo, una salud

El concepto de “Una Salud” se remonta a mediados del siglo XVIII, cuando Edward Jenner observó la relación existente entre la viruela presente en los animales y la viruela humana. Dicho autor contribuyó con sus experimentos a la erradicación de esta enfermedad utilizando el virus animal (*Cowpox virus*) para conferir inmunidad específica frente al virus que afectaba al hombre (*Variola virus*) (Razzell, 1977). Posteriormente, en el siglo XIX, Rudolf Virchow planteó que entre la medicina humana y la medicina animal no debería existir una línea divisoria y estableció un vínculo entre las enfermedades infecciosas del hombre y las de los animales, para el cual acuñó el término “zoonosis” (Saunders, 2000). En 1960, Calvin Schwabe se refirió a la creciente interdependencia entre el ser humano y los animales y propuso que la medicina humana y la veterinaria se abordasen conjuntamente en la lucha contra las enfermedades de origen zoonótico, promoviendo el incipiente concepto de “Una Medicina” (Schwabe, 1964), reformulado actualmente como “Una Salud”. Basándose en este concepto, la Sociedad para la Conservación de la Vida Silvestre utilizó por primera vez la expresión “Un Mundo, Una Salud” y

enunció, con la participación de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), los doce Principios de Manhattan (Tabla 3), centrados en la prevención de la emergencia/reemergencia de las enfermedades (Cook *et al.*, 2004). El concepto ha seguido evolucionando y, recientemente, en el año 2010, la FAO y otros organismos internacionales comenzaron a utilizar el término “Salud Compartida” para referirse a la interdependencia o vínculo existente entre la salud humana, la sanidad animal y el estado ecológico o medioambiental (Banco Mundial, 2010; Zinsstag *et al.*, 2011).

Por tanto, el concepto de “Una Salud” surge con el fin de proteger la salud pública mediante políticas destinadas a la prevención y control de los patógenos presentes en las poblaciones animales, teniendo en cuenta la evidente conexión entre el hombre, los animales de compañía, el ganado y la fauna salvaje con el medio natural (Zinsstag *et al.*, 2011; Thompson, 2013). Estas políticas traen consigo nuevos mecanismos que obligan a las partes interesadas a informarse recíprocamente de sus actividades y a actuar de manera coordinada, haciendo que los responsables de la sanidad animal y ambiental se coordinen con los correspondientes de la salud pública. Consecuentemente, los veterinarios y propietarios de animales tienen una función básica que desempeñar, al igual que quienes están regularmente en contacto con la fauna salvaje y el medio natural, en especial los participantes en actividades de pesca y caza o en la gestión de zonas protegidas (FAO *et al.*, 2008; Gibbs, 2014).

### 3. Biodiversidad, conservación y zoonosis

El mantenimiento de la biodiversidad genética, de poblaciones, de especies y de ecosistemas se considera un objetivo prioritario en materia de conservación (Brooks *et al.*, 2006; Larsen *et al.*, 2012). La fragmentación y la pérdida del hábitat, la sobreexplotación de los recursos naturales, la contaminación y el cambio climático, la presión ejercida por las especies invasoras y el tráfico de especies están identificados como responsables de pérdida de diversidad biológica, tanto en el ambiente terrestre como en el marino, hecho que ha desencadenado una preocupación general sobre el estado de los recursos naturales de los que depende la vida humana (Butchart *et al.*, 2010; Cardinale *et al.*, 2012).

Tabla 3. Los doce Principios de Manhattan.

1. Reconocer el vínculo existente entre la salud humana, la de los animales domésticos, la de la fauna salvaje y la amenaza que las enfermedades representan para las personas, el abastecimiento de alimentos y las consecuencias económicas en relación con la biodiversidad, así como el mantenimiento y funcionamiento de los ecosistemas.
2. Reconocer que las decisiones sobre el uso del suelo y del agua tienen implicaciones reales para la salud y que las alteraciones en la capacidad de recuperación de los ecosistemas y los cambios en los patrones de aparición y propagación de enfermedades se manifiestan ante la incapacidad de reconocer esta relación.
3. Incluir la salud de la fauna salvaje como un componente esencial en la prevención, vigilancia, seguimiento, control y mitigación de las enfermedades a nivel mundial.
4. Reconocer que los programas de salud pública pueden contribuir en gran medida a la conservación de las especies.
5. Diseñar programas adaptativos, integrales y con visión de futuro para la prevención, vigilancia, seguimiento, control y atenuación de las enfermedades emergentes y reemergentes teniendo en cuenta la compleja interrelación entre las especies.
6. Integrar las perspectivas de conservación de la biodiversidad con las necesidades humanas (incluyendo aquellas relacionadas con la salud de los animales domésticos) en el desarrollo de soluciones ante las enfermedades infecciosas.
7. Reducir la demanda y regular el comercio internacional de animales salvajes y de su carne, no solo para proteger las poblaciones salvajes, sino también para minimizar el riesgo de transmisión y propagación de enfermedades entre especies, propiciando el desarrollo de nuevas relaciones patógeno-hospedador. La comunidad internacional debe abordar este comercio como una verdadera amenaza para la seguridad socioeconómica a nivel global, ante el gran impacto que tiene sobre la salud pública, la agricultura y la conservación.
8. Restringir el sacrificio masivo de animales salvajes para el control de una enfermedad a aquellas situaciones en las que exista un consenso científico multidisciplinar e internacional sobre el hecho de que una población de vida salvaje represente una amenaza significativa para la salud humana, la seguridad alimentaria o para la vida salvaje en general.
9. Aumentar la inversión en infraestructuras sanitarias humana y animal a nivel mundial, en relación proporcional con la gravedad de las amenazas emergentes y reemergentes para las personas, los animales domésticos y la fauna salvaje. También, incrementar la capacidad de vigilancia de la salud humana y animal a nivel global, estableciendo un sistema eficaz de intercambio de información con el fin de mejorar la coordinación entre los organismos gubernamentales y no gubernamentales, instituciones de salud pública y animal, laboratorios farmacéuticos y otras partes interesadas.

Tabla 3. (continuación)

- 
10. Establecer mecanismos de colaboración entre gobiernos, población local y sectores públicos y privados para afrontar los retos de la salud mundial y la conservación de la biodiversidad.
  11. Proporcionar recursos y apoyo a las redes mundiales de vigilancia de la salud de la fauna salvaje, intercambiando información sanitaria con la salud pública y la sanidad animal, como parte de los sistemas de alerta temprana frente a la amenaza de enfermedades emergentes y reemergentes.
  12. Invertir en educación, sensibilizar a la población mundial e influir en la toma de decisiones para comprender mejor las relaciones entre la salud y la integridad de los ecosistemas, y así mejorar las perspectivas de un planeta más saludable.
- 

La fauna salvaje ha sido reconocida desde hace tiempo como una fuente potencial de enfermedades emergentes en el hombre y en los animales domésticos. Sin embargo, las enfermedades propias de los animales salvajes solo fueron objeto de atención si se consideraban una amenaza para los sistemas agropecuarios o para la salud física, social o económica de los seres humanos (Daszak *et al.*, 2000; Thompson *et al.*, 2009). El hecho de que las poblaciones salvajes puedan resultar afectadas por enfermedades infecciosas emergentes constituye una nueva preocupación en materia de conservación, especialmente si se trata de especies amenazadas (Daszak *et al.*, 2000, 2001; Aguirre y Tabor, 2008). Recientemente y a nivel mundial, se han descrito diversas enfermedades infecciosas en la fauna salvaje, como son la afección de los cetáceos por morbillivirus, los brotes infecciosos en los arrecifes de coral y la quitridiomycosis en los anfibios. En muchos casos, los factores que promueven la aparición de estas enfermedades son originados por cambios ambientales antropogénicos, causantes a su vez de enfermedades emergentes en el hombre (Daszak *et al.*, 2001; Bradley y Altizer, 2007; Brearley *et al.*, 2013). Además, para muchos agentes infecciosos es limitada la información existente sobre la relación con sus hospedadores, su distribución geográfica, sus rutas de transmisión y su epidemiología (Polley y Thompson, 2015). Por tanto, es obvia la necesidad de establecer las rutas de transmisión de las enfermedades de etiología infecciosa, siendo necesaria una mayor vigilancia y evaluación de la salud de las poblaciones animales desde un enfoque multidisciplinar que integre la salud humana, la del ganado y animales domésticos, la de la fauna salvaje y la del propio ecosistema (Robertson *et al.*, 2014b; Romanelli *et al.*, 2014; Buttke *et al.*, 2015).

#### 4. El uso de la fauna salvaje como indicadora de salud ambiental

Diversos estudios demostraron que los mamíferos salvajes son especialmente útiles como indicadores del estado ecológico del medioambiente al presentar una serie de características importantes: (1) el conocimiento sobre los parámetros fisiológicos y preferencias alimentarias es más amplio que en otros seres vivos; (2) existen técnicas más fiables para la determinación de la edad; (3) el tamaño de los ejemplares permite disponer de suficiente cantidad de muestra para la realización de distintos procedimientos analíticos; (4) generalmente, se dispone de ejemplares muertos en actividades cinegéticas, por lo que no es necesario su sacrificio específico para la obtención de muestras; (5) presentan la capacidad de acumular metales traza y otros contaminantes químicos de forma activa a partir del ambiente; y, (6) ante su longevidad, el impacto de una determinada exposición puede ser evaluado a lo largo del tiempo (Tataruch y Kierdorf, 2003).

Al igual que sucede con los mamíferos terrestres, los mamíferos marinos son probablemente los mejores indicadores de salud del ambiente en el que viven, ya que muchas especies tienen una larga esperanza de vida y ocupan niveles tróficos superiores, acumulando gran cantidad de grasa que actúa como depósito de contaminantes químicos. Además, al tratarse de animales relativamente fáciles de observar y por los cuales la población humana siente gran empatía, las dolencias que afectan a estas especies indirectamente conducen a la concienciación sobre el estado de los océanos (Bossart, 2011).

Por otro lado, las aves son frecuentemente utilizadas como organismos indicadores de las condiciones del ecosistema, ya que constituyen un grupo taxonómico que se encuentra en una gran variedad de biotopos, estando influenciada su presencia y abundancia por las características del hábitat que las rodea. Además, son fáciles de observar, pudiendo ser censadas a gran escala (Carignan y Villard, 2002). También y debido a su posición en la escala trófica, estos animales pueden actuar como bioindicadores de los cambios ambientales al verse afectados por una gran variedad de factores, aunque no necesariamente reflejen la salud de otros grupos taxonómicos coexistentes en el mismo hábitat (Fleishman *et al.*, 2005; Gregory, 2006).

La herpetofauna también se considera una comunidad bioindicadora muy adecuada para establecer el estado de conservación del entorno natural,

principalmente los anfibios, ya que son muy sensibles a las alteraciones del medio, además de presentar una superficie corporal muy permeable a diferentes tipos de agentes químicos (Galán, 1999).

Por otra parte, entre las especies dulceacuícolas, los macroinvertebrados bentónicos se consideran buenos indicadores biológicos del estado de salud de los sistemas acuáticos continentales. Este grupo tiene una gran importancia en los ecosistemas acuáticos, tanto por su papel en la transformación de la materia orgánica, como por representar una importante fuente de alimentación para otros organismos superiores. Además, las diferentes clases de macroinvertebrados que componen esta comunidad presentan distintos grados de sensibilidad a las alteraciones hidromorfológicas, físicas y/o químicas que puede sufrir el medio (González González y Cobo Gradín, 2006; Benetti *et al.*, 2012). De esta forma, la Directiva Marco del Agua (DMA) (Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de octubre de 2000) establece el uso de la composición y abundancia de la fauna bentónica de un río como parámetro para calcular su estado ecológico mediante la presencia/ausencia de determinados taxones.

## **5. La fauna salvaje, ¿víctima o responsable de la contaminación ambiental por *Giardia* y *Cryptosporidium*?**

Como se ha comentado con anterioridad, los protozoos *Giardia* y *Cryptosporidium* se encuentran ampliamente extendidos entre la fauna salvaje y, frecuentemente, se considera que esta actúa como reservorio de dichos patógenos, especialmente en el caso de animales ligados al medio acuático. En la literatura científica existen numerosos ejemplos de brotes hídricos en el hombre causados por estos enteroparásitos (Baldursson y Karanis, 2011). En algunos casos, inicialmente se señaló a ciertos animales salvajes como el origen de la contaminación. Así, en brotes hídricos de giardiosis acontecidos en Estados Unidos a finales del siglo XX, se atribuyó a los castores el origen de la contaminación; de hecho, la infección se reconocía como “fiebre del castor”. Sin embargo, la correlación entre los castores y el origen de las infecciones por *Giardia* en el hombre nunca se ha llegado a establecer (Cacciò *et al.*, 2005; Thompson *et al.*, 2009). De igual forma, se ha sugerido el papel de la fauna salvaje como el origen de la contaminación por *Giardia* y/o *Cryptosporidium* en zonas del continente africano, en las que tanto los primates como otros animales salvajes están en estrecho contacto con el ser humano (Messenger



*et al.*, 2014). Así, en un estudio realizado con muestras fecales de licaones (*Lycan pictus*) se identificaron los genotipos A y B de *G. duodenalis*, lo que permitió concluir que la contaminación fecal del medioambiente a partir de poblaciones humanas fue el origen de la infección en estos animales (Ash *et al.*, 2010). También, la presencia de *C. parvum* y *G. duodenalis* en gorilas de montaña (*Gorilla gorilla*) y chimpancés (*Pan troglodytes*) en determinadas zonas de Uganda y Tanzania se relacionó con la deforestación del bosque autóctono y la interacción con el hombre y el ganado (Graczyk *et al.*, 2001, 2002; Parsons *et al.*, 2014).

A pesar de que estos parásitos infectan a más de 150 especies de mamíferos, incluyendo al hombre, las rutas de transmisión ambiental todavía no se conocen completamente (Appelbee *et al.*, 2005; Smith *et al.*, 2006). Además, la información existente sobre algunas especies es a menudo insuficiente, siendo necesaria la realización de estudios complementarios con el fin de establecer dichas rutas (Abeywardena *et al.*, 2015). El hecho de que cada uno de los géneros considerados conste de un complejo de especies y numerosos genotipos, algunos de los cuales son específicos de hospedador mientras que otros presentan un carácter zoonótico, dificulta aún más su completa comprensión (Smith *et al.*, 2006; Xiao y Fayer, 2008; Xiao, 2010).

Numerosos estudios epidemiológicos demostraron que las principales fuentes de infección para el hombre son, además de otras personas infectadas, el agua y los alimentos contaminados, así como los animales domésticos (Dillingham *et al.*, 2002). Sin embargo, está demostrado el importante papel que desempeña el ganado como origen de la contaminación ambiental por *Giardia* y *Cryptosporidium* debido al uso extendido de residuos fecales para abonar campos de cultivo. Así, los animales salvajes que habitan o frecuentan las explotaciones ganaderas presentan un alto riesgo de adquirir estos parasitismos (Ziegler *et al.*, 2007b; Castro-Hermida *et al.*, 2009; Gracenea *et al.*, 2011). También, los animales de compañía, perros, gatos, roedores e incluso aves y reptiles, pueden contribuir a la transmisión de estos parásitos. Si los animales domésticos entran en contacto con la fauna salvaje, esta puede actuar como reservorio de la enfermedad para el hombre, contribuyendo a la contaminación ambiental por los citados enteropatógenos. Sin embargo, el papel que desempeñan los animales salvajes en la transmisión zoonótica de la giardiosis y la cryptosporidiosis todavía no está totalmente dilucidado (Cacciò, 2015; Robertson, 2015).





Objetivo



La presente Tesis Doctoral tiene por objetivo estudiar la presencia de *Giardia* y *Cryptosporidium* en fauna salvaje de Galicia, contribuyendo al conocimiento del impacto biológico que ambos enteroparásitos tienen sobre estos animales, ya que ellos, al igual que el hombre y los animales domésticos, son hospedadores susceptibles de albergar ambos protozoos. También, al poder actuar estos animales como bioindicadores, de forma indirecta se obtendrá información sobre el estado de salud del medio natural.







Resumen y copia de las publicaciones



**Benthic macroinvertebrate communities as aquatic bioindicators  
of contamination by *Giardia* and *Cryptosporidium***

**Reboredo-Fernández A.**, Prado-Merini Ó., García-Bernadal T.,  
Gómez-Couso H., Ares-Mazás E.

*Parasitology Research* 113 (2014) 1625-1628

Índice de impacto: 2,098  
Q2 en el área de Parasitología

URL: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00436-014-3807-y>





Los macroinvertebrados bentónicos se emplean habitualmente en programas de biomonitorización para evaluar el estado ecológico de los ríos y reflejar así las repercusiones de las actividades antropogénicas sobre la red fluvial. El objetivo del presente estudio es evaluar el uso de esta comunidad indicadora en la detección de protozoos parásitos entéricos de transmisión hídrica. Entre los años 2005 y 2009, se recogieron, mediante redes de 500  $\mu\text{m}$  de luz de malla, un total de 32 muestras de macroinvertebrados bentónicos en nueve ríos de Galicia, que se homogeneizaron (tampón fosfato salino 0,04 M, pH 7,2), filtraron (150 y 45  $\mu\text{m}$  de luz de malla) y concentraron (mediante un método difásico). A continuación, alícuotas de los sedimentos obtenidos se analizaron mediante una técnica de inmunofluorescencia directa con anticuerpos monoclonales frente a *Giardia* y *Cryptosporidium*. En una de las muestras (3,1%) se detectaron quistes de *Giardia* y en cuatro de ellas (12,5%) se observaron ooquistes de *Cryptosporidium*. Este trabajo es el primer estudio que investiga la presencia de *Giardia* y *Cryptosporidium* en macroinvertebrados bentónicos. Los resultados demuestran que esta comunidad podría utilizarse como bioindicadora de la contaminación por estos protozoos de transmisión hídrica. Además, ya que estos organismos actúan como acumuladores intermitentes y su monitorización permite el análisis cronológico de las perturbaciones, tanto a corto como a medio plazo, también podrían representar una alternativa o un método complementario a las técnicas utilizadas para detectar estos enteropatógenos humanos y animales en muestras hídricas.



**Detection and molecular characterization of *Giardia* and *Cryptosporidium* in common dolphins (*Delphinus delphis*) stranded along the Galician coast (Northwest Spain)**

**Reboredo-Fernández A., Gómez-Couso H., Martínez-Cedeira J.A., Cacciò S.M., Ares-Mazás E.**

*Veterinary Parasitology* 202 (2014) 132-137

Índice de impacto: 2,460

Q2 en el área de Parasitología

Q1 en el área de Ciencias Veterinarias



*Giardia* y *Cryptosporidium* se detectaron en muchas especies de vertebrados, tanto en libertad como en cautividad, abarcando la mayoría de órdenes de mamíferos. Más de veinte especies de mamíferos marinos están descritas en Galicia, región que presenta una de las tasas de varamientos más elevadas de Europa. Considerando los registros de varamientos, de capturas accidentales y de avistamientos se comprobó que el delfín común (*Delphinus delphis*) es el cetáceo más abundante en la costa gallega. El objetivo de este estudio es detectar y caracterizar molecularmente los aislados de *Giardia* y *Cryptosporidium* obtenidos a partir de delfines comunes varados en esta región. Entre los años 2005 y 2012, la *Coordinadora para o Estudo dos Mamíferos Mariños* (CEMMA) recogió secciones de intestino grueso de 133 especímenes varados a lo largo de la costa gallega. Mediante la aplicación de un test de inmunofluorescencia directa (IFAT) y de técnicas de PCR y secuenciación de fragmentos de los genes que codifican la SSU-rDNA, la  $\beta$ -giardina y la región ITS1-5.8S-ITS2, *Giardia* y *Cryptosporidium* se detectaron en 8 (6,0%) y 12 (9,0%) muestras, respectivamente, coexistiendo ambos parásitos en dos de ellas. La caracterización molecular de los aislados obtenidos reveló la presencia de los genotipos A ( $A_1$  y  $A_2$ ) y B de *Giardia duodenalis* y de *Cryptosporidium parvum*. Este es el primer estudio en el que la presencia de *Giardia* y *Cryptosporidium* se investiga en delfines comunes de la costa atlántica europea y representa la primera descripción de *C. parvum* en este hospedador. Nuestros hallazgos indican que estos animales no solo podrían actuar como reservorio de las infecciones causadas por ambos protozoos de transmisión hídrica, sino que también podrían ser víctimas de la contaminación originada por las actividades antrópicas.



***Giardia and Cryptosporidium in cetaceans  
on the European Atlantic coast***

**Reboredo-Fernández A.**, Ares-Mazás E., Martínez-Cedeira J.A.,  
Romero-Suances R., Cacciò S.M., Gómez-Couso H.

*Parasitology Research* 114 (2015) 693-698

Índice de impacto: 2,027  
Q2 en el área de Parasitología





La presencia de *Giardia* y *Cryptosporidium* se investigó en muestras de contenido intestinal de 65 individuos pertenecientes a ocho especies de cetáceos varados en la costa noroccidental de España. Para ello se aplicó un test de inmunofluorescencia directa y técnicas de PCR y secuenciación de fragmentos de los genes que codifican la SSU-rDNA, la  $\beta$ -giardina y la región ITS1-5.8S-ITS2 para *Giardia* y el gen que codifica la SSU-rDNA para *Cryptosporidium*. *Giardia* y *Cryptosporidium* se detectaron en 7 (10,8%) y 9 (13,8%) muestras, respectivamente, coexistiendo ambos parásitos en dos de ellas. Se identificaron los genotipos A, C, D y F de *Giardia duodenalis* y *Cryptosporidium parvum*. Esta es la primera descripción de *G. duodenalis* en *Balaenoptera acutorostrata*, *Kogia breviceps* y *Stenella coeruleoalba*. También representa la primera descripción de *Cryptosporidium* sp. en *B. acutorostrata* y de *C. parvum* en *S. coeruleoalba* y *Tursiops truncatus*. Los resultados obtenidos amplían el rango de hospedadores para estos enteropatógenos de transmisión hídrica.



**Occurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in wild birds  
in Galicia (Northwest Spain)**

**Reboredo-Fernández A., Ares-Mazás E., Cacciò S.M., Gómez-Couso H.**

*Parasitology* 142 (2015) 917-925

Índice de impacto: 3,031

Q2 en el área de Parasitología



URL: <https://www.cambridge.org/core/journals/parasitology/article/occurrence-of-giardia-and-cryptosporidium-in-wild-birds-in-galicia-northwest-spain/710B302C7DEA2A56CB95326B37B3E34F>



Entre los meses de febrero de 2007 y septiembre de 2009, se recogieron en los cuatro Centros de Recuperación de Fauna Salvaje de Galicia un total de 433 muestras fecales de aves salvajes, pertenecientes a 17 órdenes y 64 especies. Las muestras se procesaron mediante un método difásico de concentración y, posteriormente, la presencia de quistes de *Giardia* y ooquistes de *Cryptosporidium* se detectó aplicando técnicas de inmunofluorescencia directa y de PCR y secuenciación. Se obtuvieron prevalencias globales de 2,1% y 8,3% para *Giardia* y *Cryptosporidium*, respectivamente. Se describe por primera vez *Giardia* spp. en *Tyto alba* y *Caprimulgus europaeus*, así como la presencia de *Cryptosporidium* spp. en *Apus apus*, *Athene noctua*, *C. europaeus*, *Falco tinnunculus*, *Morus bassanus*, *Parabuteo unicinctus* y *Strix aluco*. Además, se denuncia por primera vez la presencia del genotipo B de *Giardia duodenalis* en *Buteo buteo*, *Coturnix coturnix* y *Pica pica*; del genotipo D de *G. duodenalis* en *Garrulus glandarius*; del genotipo F de *G. duodenalis* en *Anas platyrhynchos*; de *Cryptosporidium parvum* en *Accipiter nisus*, *B. buteo*, *Milvus migrans*, *Pernis apivorus* y *P. pica*; y, de *Cryptosporidium meleagridis* en *Streptopelia turtur*. Independientemente de la necesidad de confirmar si las aves actúan como un mero diseminador o si padecen una infección real, la detección de especies/genotipos de *Giardia* y *Cryptosporidium* comunes al hombre y al ganado confirma la amplia contaminación por estos enteropatógenos existente en Galicia, al representar las aves salvajes un excelente indicador del estado de salud ambiental.



**Detection of zoonotic and livestock-specific assemblages  
of *Giardia duodenalis* in free-living wild lizards**

**Reboredo-Fernández A., Ares-Mazás E., Galán P., Cacciò S.M., Gómez-Couso, H.**

Sometido (2016)







*Giardia duodenalis* es un protozoo parásito que infecta el tracto intestinal de un amplio rango de vertebrados, habiendo sido reportado en muchas especies salvajes. Sin embargo, en reptiles, el conocimiento existente sobre este parásito es muy limitado. En este estudio se investigó la presencia de *Giardia* en muestras fecales de 31 lacértidos pertenecientes a siete especies capturados en distintas localizaciones de Galicia. Mediante la aplicación de técnicas de PCR y secuenciación de un fragmento de la región ITS1-5.8S-ITS2, *Giardia* se detectó en 5 muestras (16,1%), identificándose el genotipo A<sub>2</sub> de *G. duodenalis* en la lagartija serrana (*Iberolacerta monticola*), el genotipo B de *G. duodenalis* en otras dos muestras de *I. monticola* y el genotipo E en una muestra perteneciente a la lagartija de Bocage (*Podarcis bocagei*). Tras la amplificación y secuenciación de un fragmento del gen que codifica la SSU-rDNA se confirmó la presencia del genotipo A de *G. duodenalis* en dos de las muestras positivas de *I. monticola*, mientras que las dos restantes los resultados obtenidos para ambos marcadores fueron inconsistentes. Este es el primer trabajo que reporta la presencia de *G. duodenalis* en lacértidos salvajes, aunque son necesarios posteriores estudios para confirmar si estos animales padecen una infección real o si tan solo actúan como meros diseminadores de la contaminación ambiental. La detección de genotipos de *G. duodenalis* zoonóticos y específicos del ganado demuestra la amplia contaminación ambiental por este parásito, posiblemente consecuencia de las actividades humanas.



## Abstract

*Giardia duodenalis* is a zoonotic parasite that infects the gut of a wide range of vertebrate hosts, being reported in numerous wildlife species. However, little is known about the presence of this protozoan parasite in reptiles. Faecal samples from 31 free-living wild lizards were collected in Galicia (northwest Spain) and screened for the presence of *Giardia* by molecular methods. By PCR amplification and sequencing of a fragment encompassing the ITS1-5.8S-ITS2 region in the ribosomal unit, *Giardia* was detected in 5 samples (16.1%), identifying *G. duodenalis* assemblage A<sub>2</sub> in two samples of Iberian rock lizard (*Iberolacerta monticola*), *G. duodenalis* assemblage B in other two samples of *I. monticola*, and *G. duodenalis* assemblage E in one sample of Bocage's wall lizard (*Podarcis bocagei*). The results obtained after PCR amplification and sequencing of a fragment of the SSU-rDNA gene confirmed the presence of *G. duodenalis* assemblage A in two samples of *I. monticola*, whereas in other two samples, the results obtained using the two molecular markers were inconsistent. This is the first work that reports the presence of *G. duodenalis* in free-living lizards, although further studies are needed to confirm if these animals suffer a real infection or if they act as mechanical disseminators of the environmental contamination. Moreover, the detection of zoonotic and livestock-specific assemblages of *G. duodenalis* demonstrates the wide environmental contamination by this parasite, possibly due to human activities.

## Keywords

*Giardia duodenalis*; Zoonotic and livestock-specific assemblages; Wild reptiles; One Health.

## Key Findings

- One of the few studies on *Giardia* in free-living lizards.
- First report of *Giardia duodenalis* assemblages A<sub>2</sub>, B and E in reptiles.
- The presence of *G. duodenalis* in wild lizards is possibly due to human activities.

## 1. Introduction

Traditionally, diseases of wildlife populations only have attracted the attention when they can affect to human wellbeing or they have economic implications. Moreover, the emergence of wildlife diseases was recognized as a threat to the domestic animal and human health, as well as a substantial risk to the conservation of global biodiversity (Daszak *et al.*, 2000). However, during the past decade, there was an increase in the number of studies that point the links between human activity and the emergence of wildlife diseases. These studies have assessed the potential role that the anthropogenic environmental alterations and the increasing human encroachment into wild habitats could represent as the main causes of this disease emergence (Thompson *et al.*, 2010; Brearley *et al.*, 2013). Recently, the investigations of wildlife diseases are recognized as a part of global health and their surveillance has become part of the activities against zoonotic emerging diseases. Therefore, integrated approaches to human and animal health, including their respective social and environmental contexts, are required (Zinsstag *et al.*, 2011). Furthermore, the health status of wildlife can be used as a barometer of the environmental health (Carignan and Villard, 2002).

*Giardia* is a genus of flagellated protozoa that infect the gut of different classes of vertebrates. Currently, six species are recognized within this genus: *Giardia agilis* in amphibians, *Giardia ardeae* and *Giardia psittaci* in birds, *Giardia muris* and *Giardia microti* in rodents and *G. duodenalis* in a wide range of mammals. *G. duodenalis* (syn. *Giardia lamblia*, *Giardia intestinalis*) is recognized as a complex of at least eight different assemblages with different host distribution: assemblages A and B are found in a wide range of domestic and wild mammals, including humans; assemblages C and D are specific for dogs and other canids; assemblage E is found in livestock; assemblage F in felids; assemblage G in rats and assemblage H in marine mammals (Cacciò, 2015).

Species of this genus were first described basing on the presumed host specificity, because of the lack of differentiating morphological features. During the first half of the XX century, over 40 species of *Giardia* were recognized, two of them in reptiles: *Giardia varani* from monitor lizard (*Varanus niloticus*) and *Giardia serpentis* from Cape viper (*Causus rhombeatus*) (Thompson *et al.*, 1990). In 1952, the increasing number of *Giardia* species and the uncertainty regarding host specificity led to a taxonomic rationalisation. Thus, most species infecting vertebrates, including those

described in reptiles, were named as *G. duodenalis* (Filice, 1952). Since then, only one description of a *G. varani*-like flagellate from a water monitor (*Varanus salvator*) has been reported in Malaysia (Upton and Zien, 1997). In the last years, few studies about the presence of *Giardia* in reptiles, both in wild and in captivity, were carried out, and their results did not show evidence of *Giardia* species in these hosts (Lallo *et al.*, 2009; Rinaldi *et al.*, 2012; Raś-Noryńska and Sokół, 2015).

This work reports by the first time the presence of zoonotic and livestock-specific assemblages of *G. duodenalis* in several species of free-living wild lizards from Galicia (northwest Spain), demonstrating the wide environmental contamination by this protozoan parasite, possibly as a result of anthropogenic activities.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Faecal samples

Thirty one free-living wild lizards were captured in different locations of the Galician region (northwest Spain) by experienced personnel at the Department of Animal, Plant and Ecological Biology, University of A Coruña (UDC) according to the Spanish protection laws for the endangered species of flora and fauna (Law 9/2001, Law 42/2007 and Decree 88/2007), which are a transposition of the European Directive 86/609/EEC (Anonymous, 1986, 2001, 2007a,b) (Figure 1). Reptiles were caught by noosing or by hand in the field being identified to species, and released in the same place without injury. As it is usually that the animals defecate as defensive response (Martins and Del Claro, 1996), faecal samples were collected *in situ* using plastic bags and stored at 4 °C. The samples belonged to: slow worm (*Anguis fragilis*, *n*=3), Galani's lizard (*Iberolacerta galani*, *n*=3), Iberian rock lizard (*Iberolacerta monticola*, *n*=21), Bocage's wall lizard (*Podarcis bocagei*, *n*=1), Iberian wall lizard (*Podarcis hispanicus*, *n*=1), Algerian psammodromus (*Psammodromus algirus*, *n*=1) and common wall gecko (*Tarentola mauritanica*, *n*=1). All the specimens were adult animals with apparently good health status.

In the Laboratory of Parasitology, Faculty of Pharmacy, University of Santiago de Compostela, faecal samples were processed using a diphasic concentration method as previously reported (Reboredo-Fernández *et al.*, 2015). Briefly, samples (0.21±0.28 g) were grounded in 10-20 ml of 0.04 M phosphate buffered saline (PBS),

pH 7.2, filtered through a set of two sieves (mesh size 150 and 45  $\mu\text{m}$ ), shaken with diethyl ether (2:1, v/v) and centrifuged at 1,250 $\times$ g, 4  $^{\circ}\text{C}$ , 15 min. The upper two layers of supernatant were carefully removed and discarded, and the sediment was washed in PBS by centrifugation at 1,250 $\times$ g, 4  $^{\circ}\text{C}$ , 15 min. The resulting pellet was resuspended in 500  $\mu\text{l}$  of 0.04 M PBS, pH 7.2.

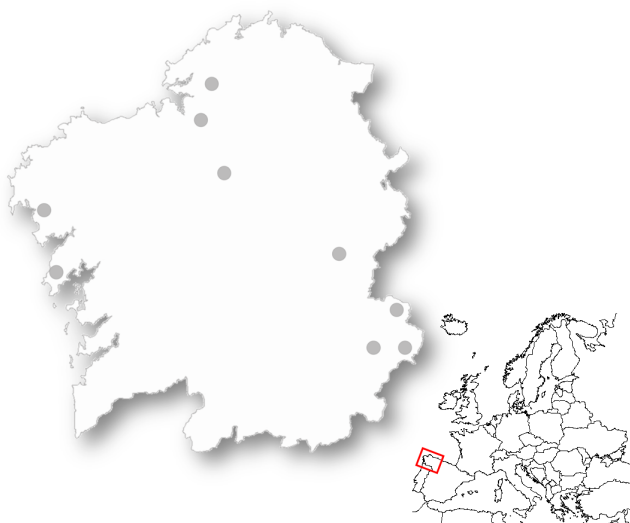


Figure 1. Geographic locations where the free-living lizards were captured.

## 2.2. Molecular characterization of *Giardia*

Nucleic acids were extracted from the sediments by using the QIAmp<sup>®</sup> DNA Stool Mini Kit (QIAGEN<sup>®</sup>, Hilden, Germany), according to the manufacturer's instructions, and DNA was stored at -20  $^{\circ}\text{C}$  until use.

Nested-PCR techniques were used to amplify a ~315-bp fragment encompassing the ITS1-5.8S-ITS2 region in the ribosomal unit of *Giardia* and a ~175-bp fragment of the small subunit ribosomal gene (SSU-rDNA) (Read *et al.*, 2002; Cacciò *et al.*, 2010). Positive and negative controls were included for all PCR runs. PCR products were subjected to electrophoresis on 2% agarose/ethidium bromide gels.

Positive PCR products were purified using the QIAquick<sup>®</sup> PCR Purification Kit (QIAGEN<sup>®</sup>, Hilden, Germany) and were sequenced in both directions by using the

ABI PRISM® BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems®, Life Technologies™, Carlsbad, CA, USA), according to the manufacturers' instructions. Sequencing reactions were analysed using the ABI PRISM® 3100 automatic sequencer (Applied Biosystems®). The sequences were assembled using SeqMan™ 7.0 (DNASTAR®, Madison, WI, USA) and compared with other sequences of *Giardia* spp. deposited in GenBank® (National Institute of Health, Bethesda, MD, USA) by using the public web interface of the BLAST® 2.2.29 program (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>, National Center for Biotechnology Information).

### 2.3. Nucleotide sequence accession numbers

Some sequences obtained in the present study were deposited in the GenBank® database under accession numbers KM065501, KM065502, KM065503, KM065506 and KM065507.

## 3. Results and discussion

This work is one of the very few studies in which *Giardia* has been investigated in reptiles and reports by the first time the presence of zoonotic and livestock-specific assemblages of *G. duodenalis* in two species of free-living wild lizards. Thus, among the 31 samples analysed, five samples were positive (16.1%), corresponding to Iberian rock lizard (*I. monticola*) (4/21, 19.0%) and Bocage's wall lizard (*P. bocagei*) (1/1, 100%) (Table 1). Partial nucleotide sequences of the fragment encompassing the ITS15.8S-ITS2 region in the ribosomal unit of *Giardia* were obtained from all these isolates. Four sequences were 99% similar to other deposited in the GenBank®, two corresponding to *G. duodenalis* assemblage A<sub>2</sub> and other two corresponding to *G. duodenalis* assemblage B (GenBank® accession numbers GU126432 and GU126440, respectively). The remaining sequence was identical to the livestock-specific *G. duodenalis* assemblage E (GenBank® accession number GU126434). On the other hand, the results of the PCR amplification and sequencing of a fragment of the SSU-rDNA gene show the presence of *G. duodenalis* assemblage A in four of these samples. In two of them, the presence of this assemblage was confirmed, whereas in the other two remaining samples, the results were inconsistent in relation with those obtained from the ITS1-5.8S-ITS2 region (see Table 1). These inconsistencies in the results obtained for both molecular markers can be due to the small size of the fragment of the SSU-rDNA gene sequenced (Wielinga and Thompson, 2007). In any

case, the use of this gene allowed the confirmation of the presence of *G. duodenalis* in these hosts.

Table 1. Presence and molecular characterization of *Giardia* in free-living wild lizards.

Scientific name (common name)	Analysed samples (n)	Positive samples (%)	Molecular characterisation (ITS1-5.8S-ITS2/SSU-rDNA)
<i>Anguis fragilis</i> (slow worm)	3	0	-
<i>Iberolacerta galani</i> (Galani's lizard)	3	0	-
<i>Iberolacerta monticola</i> (Iberian rock lizard)	21	4 (19.0)	<i>G. duodenalis</i> A <sub>2</sub> /A <i>G. duodenalis</i> A <sub>2</sub> /A <i>G. duodenalis</i> B/A <i>G. duodenalis</i> B/-
<i>Podarcis bocagei</i> (Bocage's wall lizard)	1	1 (100)	<i>G. duodenalis</i> E/A
<i>Podarcis hispanicus</i> (Iberian wall lizard)	1	0	-
<i>Psammodromus algirus</i> (Algerian psammodromus)	1	0	-
<i>Tarentola mauritanica</i> (common wall gecko)	1	0	-

To the best of our knowledge, this is the first time that *G. duodenalis* is detected in free-living wild reptiles. Rinaldi *et al.* (2012) did not identified this protozoan parasite in a study carried out in pet reptiles (25 lizards and 125 snakes) surveyed in Italy. Neither *Giardia* was detected in three wild lizards from Brazil (Lallo *et al.*, 2009). Nevertheless, *Giardia* cysts were observed in the faeces of one chameleon among several pet reptile species analysed in Poland (76 lizards, 15 turtles and 10 snakes), but the authors did not characterize this isolate at molecular level (Raś-Noryńska and Sokół, 2015).

Most of *Giardia* infections that occur naturally in wildlife are caused by zoonotic species, which are considered to have been introduced into wildlife habitats and, once they are established, it appears that they are maintained by direct contact or environmental routes (Thompson, 2013; Abeywardena *et al.*, 2015). The study region (Galicia, northwest Spain) is characterized by an important livestock sector and extensive rural areas, where farmers usually applied slurry as manure in the grasslands. Moreover, the region has a high rainfall and faecal contamination of surface waters by runoff from manure-fertilized fields is common. Thus, assemblage E is the most frequently *G. duodenalis* genotype detected in surface waters followed by assemblage A (Castro-Hermida *et al.*, 2015). On the other



hand, the lizard species under study feed on flies and other insects that can act as mechanical vectors of this parasite in rural areas, previously demonstrated by several authors (Conn *et al.*, 2007; Zhao *et al.*, 2014). Therefore, since hoofed animals are natural hosts for *G. duodenalis* assemblages A, B and E (Cacciò, 2015) and they were identified in Galician livestock (Castro-Hermida *et al.*, 2007), the detection of zoonotic and livestock-specific assemblages of *G. duodenalis* in free-living wild lizards indicates the importance that livestock management practices have in the transmission of this flagellated parasite.

Finally, the results of the present study increase the number of species in which the presence of *Giardia* was reported and suggest that this parasite is widely dispersed in wildlife. Although we cannot confirm the existence of real infections in these lizards, the detection of zoonotic and livestock-specific assemblages of *G. duodenalis* supports the increasing evidence that the presence of this protozoon in wildlife is the result of the environmental contamination from anthropogenic activities.

### **Conflict of interest**

None of the authors have any commitments, consultancies or contracts that could be considered as conflicts of interest with respect to this study.

### **Acknowledgements**

This study was funded by the Spanish Ministry of Education and Science (grant no. CGL-2007-60656) and by the Department of Culture, Education and University of the Autonomous Government of Galicia (grant no. GPC-2014-069).

## References

- Abeywardena, H., Jex, A.R. and Gasser, R.B. 2015.** A perspective on *Cryptosporidium* and *Giardia*, with an emphasis on bovines and recent epidemiological findings. *Advances in Parasitology*, **88**: 243-301.
- Anonymous. 1986.** Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. *Official Journal of the European Union*, **358**: 1-28.
- Anonymous. 2001.** Law 9/2001, of 21 August, of nature conservation. *Official Gazette of Galicia*, **171**: 11754-11769.
- Anonymous. 2007a.** Decree 88/2007, of 19 April, which regulates the Galician catalogue of threatened species. *Official Gazette of Galicia*, **155**: 7409-7423.
- Anonymous. 2007b.** Law 42/2007, of 13 December, of natural heritage and biodiversity. *Spanish Official State Gazette*, **299**: 51275-51327.
- Brearley, G., Rhodes, J., Bradley, A., Baxter, G., Seabrook, L., Lunney, D., Liu, Y. and McAlpine, C. 2013.** Wildlife disease prevalence in human-modified landscapes. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, **88**: 427-442.
- Cacciò, S.M. 2015.** Giardiasis: a zoonotic infection or not? In: *Zoonoses - Infections affecting humans and animals*. Sing, A. (Ed.). Springer, Heidelberg, pp: 821-848.
- Cacciò, S.M., Beck, R., Almeida, A., Bajer, A. and Pozio, E. 2010.** Identification of *Giardia* species and *Giardia duodenalis* assemblages by sequence analysis of the 5.8S rDNA gene and internal transcribed spacers. *Parasitology*, **137**: 919-925.
- Carignan, V. and Villard, M.-A. 2002.** Selecting indicator species to monitor ecological integrity: a review. *Environmental Monitoring and Assessment*, **78**: 45-61.
- Castro-Hermida, J.A., González-Warleta, M. and Mezo, M. 2015.** *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* as pathogenic contaminants of water in Galicia, Spain: the need for safe drinking water. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, **218**: 132-138.

- Castro-Hermida, J.A., Almeida, A., González-Warleta, M., Correia da Costa, J.M., Rumbo-Lorenzo, C. and Mezo, M. 2007.** Occurrence of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia duodenalis* in healthy adult domestic ruminants. *Parasitology Research*, **101**: 1443-1448.
- Conn, D.B., Weaver, J., Tamang, L. and Graczyk, T.K. 2007.** Synanthropic flies as vectors of *Cryptosporidium* and *Giardia* among livestock and wildlife in a multispecies agricultural complex. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, **7**: 643-651.
- Daszak, P., Cunningham, A.A. and Hyatt, A.D. 2000.** Emerging infectious diseases of wildlife—threats to biodiversity and human health. *Science*, **287**: 443-449.
- Filice, F.P. 1952.** Studies on the cytology and life history of a *Giardia* from the laboratory rat. *University of California Publications in Zoology*, **57**: 53-146.
- Lallo, M.A., Pereira, A., Araújo, R., Favorito, S.E., Bertolla, P. and Bondan, E.F. 2009.** Occurrence of *Giardia*, *Cryptosporidium* and microsporidia in wild animals from a deforestation area in the state of São Paulo, Brazil. *Ciencia Rural*, **39**: 1465-1470.
- Martins, M. and Del Claro, K. 1996.** Defensive tactics in lizards and snakes: the potential contribution of the neotropical fauna. *Anais de Etologia*, **14**: 185-199.
- Raś-Noryńska, M. and Sokół, R. 2015.** Internal parasites of reptiles. *Annals of Parasitology*, **61**: 115-117.
- Read, C., Walters, J., Robertson, I.D. and Thompson, R.C.A. 2002.** Correlation between genotype of *Giardia duodenalis* and diarrhoea. *International Journal for Parasitology*, **32**: 229-231.
- Reboredo-Fernández, A., Ares-Mazás, E., Cacciò, S.M. and Gómez-Couso, H. 2015.** Occurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in wild birds in Galicia (Northwest Spain). *Parasitology*, **142**: 917-925.
- Rinaldi, L., Capasso, M., Mihalca, A.D., Cirillo, R., Cringoli, G. and Cacciò, S. 2012.** Prevalence and molecular identification of *Cryptosporidium* isolates from pet lizards and snakes in Italy. *Parasite*, **19**: 437-440.

- Thompson, R.C.A. 2013.** Parasite zoonoses and wildlife: One Health, spillover and human activity. *International Journal for Parasitology*, **43**: 1079-1088.
- Thompson, R.C.A., Lymbery, A.J. and Meloni, B.P. 1990.** Genetic variation in *Giardia* Kunstler, 1882: taxonomic and epidemiological significance. *Protozoological Abstracts*, **14**: 1-28.
- Thompson, R.C.A., Lymbery, A.J. and Smith, A. 2010.** Parasites, emerging disease and wildlife conservation. *International Journal for Parasitology*, **40**: 1163-1170.
- Upton, S.J. and Zien, C.A. 1997.** Description of a *Giardia varani*-like flagellate from a water monitor, *Varanus salvator*, from Malaysia. *Journal of Parasitology*, **83**: 970-971.
- Wielinga, C.M. and Thompson, R.C. 2007.** Comparative evaluation of *Giardia duodenalis* sequence data. *Parasitology*, **134**: 1795-1821.
- Zhao, Z., Dong, H., Wang, R., Zhao, W., Chen, G., Li, S., Qi, M., Zhang, S., Jian, F., Zhao, J., Zhang, L., Wang, H. and Liu, A. 2014.** Genotyping and subtyping *Cryptosporidium parvum* and *Giardia duodenalis* carried by flies on dairy farms in Henan, China. *Parasites and Vectors*, **7**: 190-195.
- Zinsstag, J., Schelling, E., Waltner-Toews, D. and Tanner, M. 2011.** From “one medicine” to “one health” and systemic approaches to health and well-being. *Preventive Veterinary Medicine*, **101**: 148-156.



Discusión general



La degradación y la contaminación del hábitat, el cambio climático y la introducción de especies exóticas invasoras se encuentran entre los factores más importantes que alteran la vida en la Tierra, desde las selvas y las profundidades oceánicas hasta las ciudades más densamente pobladas, siendo también circunstancias responsables de la disminución en el número de especies (Butchart *et al.*, 2010). Históricamente, la fauna salvaje estuvo infravalorada por la comunidad internacional, considerándose como algo meramente estético o como una simple atracción turística (Chardonnet *et al.*, 2002). Sin embargo, en estos últimos años, el valor de la fauna salvaje ha sido reconsiderado, no solo por la pérdida de biodiversidad, sino también por las interacciones entre esta, los animales domésticos y el hombre (Daszak *et al.*, 2000; Thompson *et al.*, 2009). Además, el papel de la fauna salvaje como origen de infecciones zoonóticas se está replanteando y, en la actualidad, se considera que el incremento de las denominadas enfermedades emergentes/reemergentes amenaza tanto a la población humana, como a la flora y a la fauna (Daszak *et al.*, 2001). También, el hecho de que la vida salvaje pueda resultar perjudicada por estas enfermedades infecciosas constituye una preocupación en materia de conservación, al representar un serio riesgo para las especies que se encuentran amenazadas (Cardinale *et al.*, 2012).

Fruto de esta preocupación surge el concepto de “Una Salud”, que pretende abordar en conjunto la salud humana, la sanidad animal y el estado del propio ecosistema. El enfoque de “Una Salud” ha alcanzado una gran importancia en estos últimos años, implicando la colaboración de diferentes áreas de investigación con el fin de prevenir la emergencia de enfermedades y el deterioro del medio natural, esenciales para el bienestar de la humanidad. La FAO considera el modelo basado en “Una Salud” como un pilar fundamental para el control de las enfermedades. Dentro de este modelo, la mayoría de las medidas se enfocan al control de las enfermedades infecciosas emergentes/reemergentes, cuya repercusión en la salud pública y en la economía es muy importante (FAO *et al.*, 2008).

Las enfermedades infecciosas emergentes/reemergentes están originadas, aproximadamente en el 50% de los casos, por bacterias, en el 25%, por virus o priones, siendo tan solo el 13% de ellas de etiología parasitaria (Jones *et al.*, 2008). Sin embargo, algunas parasitosis que generalmente se consideraban olvidadas tienen un fuerte impacto sobre la población humana y deberían ser abordadas desde la perspectiva de “Una Salud” (Robertson *et al.*, 2014b). La enfermedad diarreica de origen infeccioso es responsable de elevadas tasas de morbilidad y mortalidad en el hombre, principalmente en países en vías de desarrollo (Kotloff *et al.*, 2013). Entre los patógenos responsables de estos procesos diarreicos se incluyen *Giardia* y *Cryptosporidium*, dos protozoos parásitos que representan un considerable riesgo para la salud humana y animal (Abeywardena *et al.*, 2015).

*Giardia* y *Cryptosporidium* se han descrito en una gran variedad de animales vertebrados, existiendo numerosos estudios sobre las patologías que ocasionan (Fayer y Xiao, 2007; Cacciò, 2015). La mayoría de ellos se realizaron en animales de interés comercial, especialmente en animales de granja, en los que dichos patógenos pueden originar importantes pérdidas económicas (de Graaf *et al.*, 1999; Bomfim *et al.*, 2005). Por otro lado, también se ha constatado la presencia de ambos protozoos entre la fauna salvaje (Feng y Xiao, 2011; Ryan *et al.*, 2014). Sin embargo, los estudios en estos animales son más escasos, siendo limitado el conocimiento sobre cómo estos protozoos afectan a la salud de sus poblaciones.

La presente Tesis Doctoral tiene por objetivo estudiar la presencia de *Giardia* y *Cryptosporidium* en fauna salvaje de Galicia, contribuyendo al conocimiento del impacto biológico que ambos enteroparásitos tienen sobre estos animales, ya que ellos, al igual que el hombre y los animales domésticos, son hospedadores susceptibles de albergar ambos protozoos. También, al poder actuar estos animales como bioindicadores, de forma indirecta se obtendrá información sobre el estado de salud del medio natural.

Para ello, se dispuso de 694 muestras procedentes de diferentes grupos de animales salvajes proporcionadas principalmente por los cuatro CRFS de Galicia y por la CEMMA, organismos que donaron desinteresadamente las muestras que tenían a su disposición. Sin la colaboración de estas entidades no se hubiera podido llevar a cabo la presente Tesis Doctoral, ya que aportaron el 90,9% de las muestras. Sus trabajadores y voluntarios fueron los responsables de la recogida y



almacenamiento de las muestras de aves y mamíferos marinos que, posteriormente, se enviaron al Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Santiago de Compostela. Además, se contó con la colaboración del Departamento de Biología Animal, Biología Vegetal y Ecología de la Universidad de A Coruña, cuyo personal capturó diversas especies de reptiles en diferentes puntos de la geografía gallega, conforme a la legislación vigente [Ley 9/2001 (DOG núm. 171, de 4 de septiembre de 2001), Ley 42/2007 (BOE núm. 299, de 14 de diciembre de 2007) y Real Decreto 88/2007 (DOG núm. 89, de 9 de mayo de 2007)]. Las muestras se recogieron al defecar los animales como respuesta defensiva, siendo liberados posteriormente (Martins y Del Claro, 1996).

La proporción de especies estudiadas en esta Tesis Doctoral en relación a las que habitan en el territorio gallego es bastante elevada, al menos por lo que respecta a las aves, mamíferos marinos y reptiles. Así, de las 152 especies de aves nidificantes descritas en Galicia, se analizaron muestras pertenecientes a 64 especies (aproximadamente un 40%) (Penas Patiño *et al.*, 2004). De igual forma, se dispuso de muestras procedentes de mamíferos marinos, consistentes en pequeñas porciones de intestino grueso recogidas durante la necropsia de ejemplares varados en la costa gallega. Estas muestras pertenecían a nueve especies, abarcando el 33% de las especies de mamíferos marinos descritas en esta región (López, 2011). Con respecto a los reptiles, se analizaron siete especies de lacértidos, representando el 54% del total de especies existentes en esta área geográfica (Galán, 2005). Por tanto, se podría decir que la comunidad animal analizada puede ser representativa para los citados grupos de animales constituyentes de la fauna gallega.

Las especies estudiadas abarcan diferentes hábitats de la región. Las aves, de ecología trófica muy variada, presentan una elevada capacidad de dispersión. La gran mayoría de las especies analizadas correspondieron a aves de presa, especies depredadoras que permiten su utilización como bioindicadores de los cambios que se producen en el ecosistema (Gregory y Strien, 2010). De igual forma, los mamíferos marinos se encuentran en la cima de la pirámide alimenticia y, por tanto, su estudio puede ser el reflejo de la calidad del medio en el que habitan (Bossart, 2011). Por el contrario, los reptiles presentan una menor capacidad de dispersión, por lo que la adquisición de agentes patógenos de transmisión fecal-oral está más estrechamente ligada al ambiente que los rodea.

También, se dispuso de muestras de macroinvertebrados bentónicos, las cuales se recogieron en diferentes ríos de Galicia por personal especializado. La comunidad de macroinvertebrados existente en diferentes hábitats dulceacuícolas se analiza de forma rutinaria a nivel de la Unión Europea para establecer la calidad ecológica de las masas de agua, ya que estos animales son excelentes bioindicadores de la “salud” de los medios acuáticos continentales (Benetti *et al.*, 2012).

Por otro lado, los CRFS de Galicia acogen ejemplares de especies de mamíferos terrestres muy variadas para su tratamiento y recuperación, aunque en número muy reducido y generalmente representado por tan solo un individuo. Por este motivo, no se incluyó a este grupo de animales en el presente compendio de publicaciones, a pesar de que se analizaron 40 muestras pertenecientes a 16 especies. Sin embargo, no se dispuso de muestras de peces ni de anfibios, ya que las entidades colaboradoras no reciben individuos de estas clases de vertebrados.

Las técnicas empleadas para la realización de la presente Tesis Doctoral se seleccionaron de acuerdo con los métodos utilizados convencionalmente para la concentración, detección y caracterización molecular de *Giardia* y *Cryptosporidium* en muestras fecales. La concentración de las formas parasitarias mediante la aplicación de métodos difásicos está ampliamente reportada en la literatura (Fayer *et al.*, 2000a; Smith, 2007). La detección de *Giardia* y *Cryptosporidium* en diversos tipos de muestras puede llevarse a cabo mediante la observación microscópica de quistes/ooquistes, facilitada por la aplicación de técnicas de inmunofluorescencia (IFAT), o por la amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y posterior secuenciación del ADN extraído de las muestras. La eficacia en la detección de ambos parásitos mediante la aplicación de los citados métodos puede ser variable, aunque generalmente se considera que las técnicas de PCR presentan una mayor sensibilidad. En este trabajo se utilizaron ambas técnicas, IFAT y PCR. La primera requiere una manipulación mínima de la muestra, reduciendo así la pérdida de formas parasitarias y ofreciendo la ventaja de posibilitar la observación de quistes/ooquistes total o parcialmente vacíos, cuyo material genético podría estar ausente o degradado. Por otro lado, el empleo de técnicas moleculares es imprescindible para identificar las especies y/o genotipos parasitarios implicados, principalmente en aquellos casos, como el de *Giardia* y *Cryptosporidium*, en los que las características morfológicas de las formas parasitarias no permiten su identificación (Robertson, 2007).

En el caso de *Giardia*, la aplicación de la técnica de PCR permitió su detección en muestras en las que previamente no se habían visualizado formas de resistencia mediante microscopía de epifluorescencia. Estos resultados confirman la elevada sensibilidad, ya comprobada por otros autores, que poseen las técnicas moleculares en comparación con los ensayos de inmunofluorescencia (Amar *et al.*, 2004; Appelbee *et al.*, 2010). Por el contrario, en el caso de *Cryptosporidium* se obtuvieron mejores resultados mediante IFAT, detectándose ooquistes en muestras en las que posteriormente no se logró amplificar el ADN. Esta menor sensibilidad en la técnica de PCR podría deberse a la existencia, ya comentada, de formas ooquisticas vacías o con el material genético degradado (Gómez-Couso *et al.*, 2006a).

Entre los marcadores genéticos utilizados para identificar las especies de *Giardia* se incluyen el gen que codifica la subunidad ribosomal 18S (SSU-rDNA), la región que comprende los dos espaciadores transcritos internos ITS1 e ITS2, incluyendo el gen 5.8S (ITS1-5.8S-ITS2), y el gen que codifica la  $\beta$ -giardina. Los tres marcadores ofrecen, generalmente, un buen éxito en la amplificación, aportando también información a nivel subgenotípico, aunque la SSU-rDNA es el marcador más frecuentemente utilizado al ofrecer una mayor sensibilidad (Thompson y Ash, 2016). De igual forma, la SSU-rDNA es el marcador genético empleado con más frecuencia en la identificación de las especies de *Cryptosporidium*. También con resultados satisfactorios, se utiliza el gen que codifica la proteína de shock térmico de 70 kDa (HSP70) (Thompson y Ash, 2016). Los citados marcadores genéticos se emplearon en el presente trabajo para identificar los aislados de *Giardia* y *Cryptosporidium* obtenidos a partir de las muestras de animales salvajes.

De acuerdo con el Reglamento de la Universidad de Santiago de Compostela, que regula la tramitación y la evaluación de las Tesis Doctorales, hemos optado por presentar esta memoria bajo la modalidad de compendio de publicaciones. Los artículos que la constituyen forman una unidad temática, ya que todos ellos tienen por finalidad contribuir al conocimiento sobre la presencia de dos protozoos parásitos, *Giardia* y *Cryptosporidium*, en la fauna salvaje de Galicia. Las publicaciones se elaboraron considerando el grupo taxonómico al que pertenecen las especies hospedadoras. Así, desde un menor grado evolutivo, se abordaron los macroinvertebrados bentónicos, los reptiles, las aves, para finalizar con los mamíferos marinos, grupo que dio lugar a dos publicaciones: en la primera, se reportaron los resultados obtenidos en el delfín común (*D. delphis*), ante el elevado

número de muestras disponibles (n=133), ya que es la especie de cetáceo más abundante en las aguas gallegas; posteriormente, se hicieron públicos los resultados obtenidos en otras especies de mamíferos marinos.

Se comprobó que *Giardia* y *Cryptosporidium* están ampliamente dispersos entre la biodiversidad existente en el territorio gallego, habiéndose detectado en todas las clases de animales estudiadas. Así, de las 694 muestras analizadas, pertenecientes a 80 especies de vertebrados y a varios órdenes de macroinvertebrados bentónicos, se comprobó la presencia de *Giardia* y *Cryptosporidium* en 4,3% y 8,8% de las muestras, respectivamente. Considerando la aleatoriedad en la toma de muestra, para algunas especies los resultados obtenidos pueden tener una significancia estadística, mientras que para otras, el reducido número de individuos analizados no permite reflejar la situación real existente en la naturaleza.

Independientemente de la cronología de las publicaciones y haciendo propia la frase del Dr. Ronald Fayer, *from land to sea* (Fayer *et al.*, 2004), el hilo conductor de la presente discusión abarca el estudio de *Giardia* y *Cryptosporidium* desde las especies terrestres hasta aquellas que habitan en el medio marino.

La información existente sobre la presencia de *Giardia* y *Cryptosporidium* en aves salvajes es escasa. La mayoría de los estudios realizados se centran en especies que pueden desempeñar un papel fundamental en la dispersión de estos enteropatógenos, como son las aves acuáticas y/o las migratorias (Kuhn *et al.*, 2002; Graczyk *et al.*, 2008; Majewska *et al.*, 2009; Plutzer y Tomor, 2009). El presente trabajo es uno de los más amplios estudios realizados en aves salvajes a nivel mundial, siendo el primero llevado a cabo en la Península Ibérica (433 muestras pertenecientes a 64 especies). La prevalencia global obtenida para *Giardia* fue 2,1%, valor inferior al reportado en otros estudios, en los que esta osciló entre 5,0-28,0% (Kuhn *et al.*, 2002; Papazahariadou *et al.*, 2008; Majewska *et al.*, 2009; Plutzer y Tomor, 2009). Sin embargo, la prevalencia obtenida para *Cryptosporidium* (8,3%) fue similar a los valores existentes en la literatura científica: 5,8% en Hungría (Plutzer y Tomor, 2009); 6,3% en Australia (Ng *et al.*, 2006); 7,2% en Estados Unidos (Ziegler *et al.*, 2007b); y, 13,0% en Grecia (Papazahariadou *et al.*, 2008).

La caracterización molecular de los aislados demostró que no se encontraron especies de *Giardia* propias de estos hospedadores. Así, *G. ardeae* y *G. psittaci* no se identificaron. Sin embargo, se comprobó la presencia de la única especie patógena

para el hombre, *G. duodenalis*. Concretamente, en el 87,5% de las muestras positivas se identificaron los genotipos zoonóticos A y B. Destaca la primera descripción del genotipo A en el ratonero común (*Buteo buteo*) y del genotipo B en la codorniz común (*Coturnix coturnix*) y en la urraca (*Pica pica*). También, se denuncia por primera vez la presencia de los genotipos D y F (específicos de cánidos y félidos) en las heces de un arrendajo (*Garrulus glandarius*) y de un ánade real (*A. platyrhynchos*), respectivamente. Aunque no se pudieron caracterizar molecularmente los aislados, se observaron también por primera vez quistes de *Giardia* spp. en muestras fecales de una lechuza (*T. alba*) y de un chotacabras gris (*Caprimulgus europaeus*).

Por otra parte y entre las especies de *Cryptosporidium* propias de las aves, *C. baileyi* es la especie más frecuentemente diagnosticada, siendo responsable de importantes manifestaciones clínicas en estos animales. La especie *C. galli* también ha sido reportada en numerosas aves, aunque es más habitual en individuos de los órdenes Psittaciformes y Passeriformes. En Columbiformes, se ha descrito principalmente *C. meleagridis*, también presente en otros órdenes. Además, numerosos genotipos de *Cryptosporidium* se han reportado en una gran variedad de especies, la mayoría propias de otras latitudes (ver Nakamura y Meireles, 2015). Recientemente, se ha reconocido una nueva especie, *C. avium* (previamente denominado genotipo *avian V*) y cuyo hospedador tipo es el perico maorí cabecirrojo (*Cyanoramphus novaezelandiae*) (Holubová *et al.*, 2016). De las especies anteriormente citadas, en el presente trabajo solo *C. meleagridis* se identificó en una tórtola europea (*Streptopelia turtur*), representando la primera descripción en este hospedador. Además, este hallazgo destaca debido al conocido carácter zoonótico de dicha especie, la tercera más prevalente en el hombre en ciertas zonas geográficas (Cama *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2014b). La presencia de *C. meleagridis* en la tórtola podría representar un potencial riesgo para la salud humana, a pesar de ser un ave que habita principalmente en áreas rurales y tiene un escaso contacto con la población humana.

Aunque *C. parvum* no es propia de aves, en nuestro estudio se identificó en muestras fecales de seis especies pertenecientes a las familias Accipitridae y Corvidae, siendo la primera descripción en el gavilán común (*Accipiter nisus*), en el ratonero común (*B. buteo*), en el milano negro (*Milvus migrans*), en el abejero europeo (*Pernis apivorus*) y en la urraca (*P. pica*). Además, se observaron ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en diferentes muestras fecales procedentes de otras especies

de aves, representando las primeras descripciones en el vencejo común (*Apus apus*), en el mochuelo común (*Athene noctua*), en el chotacabras gris (*C. europaeus*), en el cernícalo vulgar (*Falco tinnunculus*), en el alcatraz común (*Morus bassanus*), en el busardo mixto (*Parabuteo unicinctus*) y en el cárabo común (*Strix aluco*).

Por otra parte, los hábitos acuáticos de ciertas aves, como las anátidas, pueden facilitar la adquisición de las formas infectantes directamente a partir de agua contaminada con material fecal (Cacciò *et al.*, 2005). La contaminación ambiental con residuos fecales procedentes de animales domésticos o del hombre constituye, para la fauna salvaje, una potencial fuente de infección por parásitos como *Giardia* y *Cryptosporidium* (Appelbee *et al.*, 2005; Kutz *et al.*, 2009; Thompson, 2013). Estudios previos realizados en muestras ambientales, en nutrias salvajes y en moluscos bivalvos pusieron de manifiesto la amplia contaminación ambiental existente en Galicia por estos enteropatógenos (Gómez-Couso *et al.*, 2005a, 2006b; Méndez-Hermida *et al.*, 2007). Además, la tasa de contaminación por estos parásitos detectada en diversas masas de agua de Galicia se correlacionó positivamente con los niveles de actividad ganadera que se desarrollan en sus márgenes (Castro-Hermida *et al.*, 2010).

En aves con hábitos más generalistas, la detección de ambos parásitos podría deberse precisamente a su escasa preferencia por el tipo de alimento, ya que estos animales pueden acudir a vertederos y otras zonas poco salubres. Además, al constituir el ganado una potencial fuente de contaminación por estos patógenos, las aves que habitan o frecuentan las explotaciones ganaderas presentan un alto riesgo de adquirir estos parasitismos (Ziegler *et al.*, 2007b; Castro-Hermida *et al.*, 2009; Gracenea *et al.*, 2011). El consumo de pequeñas presas también podría ser la causa de la existencia de los citados enteropatógenos en muestras fecales de aves. Así, se demostró que ciertos invertebrados, como los caracoles, potenciales indicadores de la contaminación edáfica, y las moscas sinantrópicas no mordedoras, pueden transportar formas parasitarias de *Giardia* y *Cryptosporidium* en sus tractos digestivos y/o en su superficie externa, pudiendo constituir una fuente de transmisión en zonas rurales (Clavel *et al.*, 2002; Conn *et al.*, 2007; Neira *et al.*, 2010; Zhao *et al.*, 2014).

La presencia de ambos parásitos en aves rapaces, situadas en la cima de la cadena trófica, refleja la amplia dispersión de estos enteropatógenos en el ambiente. Así,



pequeños mamíferos, otras aves e incluso reptiles parasitados pueden desempeñar un papel importante en la transmisión de la cryptosporidiosis a las aves de presa, al constituir aquellos su recurso alimenticio (Ryan, 2010). Independientemente de la necesidad de confirmar si las aves actúan como un mero diseminador mecánico o si padecen una infección real, la detección de especies/genotipos de *Giardia* y *Cryptosporidium* comunes al hombre y al ganado confirma, una vez más, la amplia contaminación por estos enteroparásitos existente en Galicia, al representar las aves salvajes un excelente indicador del estado de salud ambiental.

A diferencia de las aves, cuya amplia capacidad de dispersión las expone a multitud de condiciones que pueden favorecer la adquisición de estos protozoos parásitos, los reptiles, otro grupo de vertebrados estudiados en la presente Tesis Doctoral, presentan una limitada capacidad de dispersión al ser su área de campeo menor. Los estudios sobre *Giardia* y *Cryptosporidium* en reptiles salvajes son muy escasos. Hasta la actualidad, los trabajos existentes se centran en *Cryptosporidium*, especialmente en ofidios utilizados como animales de compañía, no estando descritos los reptiles como hospedadores de *Giardia* (Thompson y Smith, 2011). De hecho, en la escasa literatura disponible, la investigación sobre este flagelado ofreció resultados negativos. Así, no se detectó la presencia de este parásito en tres reptiles salvajes analizados en Brasil (Lallo *et al.*, 2009). Tampoco Rinaldi *et al.* (2012) encontraron este protozoo en un estudio realizado en Italia utilizando 25 muestras de lacértidos y 125 de ofidios mantenidos en cautividad. Recientemente, en Polonia, se observaron quistes de *Giardia* en las heces de un camaleón durante la realización de un amplio estudio en reptiles en cautividad, no caracterizándose molecularmente el aislado de *Giardia* obtenido (Raś-Noryńska y Sokół, 2015).

Por tanto, el presente trabajo constituye uno de los muy escasos estudios realizados sobre *Giardia* en estos hospedadores, demostrando por primera vez la presencia de diferentes genotipos de *G. duodenalis* en reptiles. De esta forma, se identificaron los genotipos A y B en la lagartija serrana (*Iberolacerta monticola*) y el genotipo E, específico de artiodáctilos, en la lagartija de Bocage (*P. bocagei*). Estos hallazgos no solo confirman la dispersión que presentan en el territorio gallego los genotipos zoonóticos, sino que además apoyan la hipótesis de que estos genotipos tienen un amplio rango de hospedadores entre la fauna salvaje, como sugieren los cada vez más frecuentes estudios llevados a cabo en estos animales (Cacciò, 2015). Además de en las dos especies de hospedadores citadas anteriormente, se

comprobó la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium* spp. en la lagartija leonesa (*Iberolacerta galani*) y en la lagartija ibérica (*Podarcis hispanicus*). Sin embargo, los intentos de amplificar un fragmento del gen que codifica la SSU-rDNA no ofrecieron resultados satisfactorios, a pesar de que diversas especies de reptiles están descritas como hospedadores de *C. serpentis* y *C. varanii* (Graczyk, 2007; Ryan *et al.*, 2014). Esta circunstancia podría justificarse por el bajo número de ooquistes cuantificados en las muestras, así como por la escasa cantidad disponible de las mismas, como previamente sugirieron Pedraza-Díaz *et al.* (2009), quienes solo consiguieron caracterizar molecularmente 11 de las 36 muestras que ofrecieron resultados positivos mediante inmunofluorescencia.

La dieta de las especies de lacértidos analizadas en el presente trabajo se compone principalmente de insectos. Por tanto, al igual que se argumentó para algunas aves, la adquisición de los protozoos pudo ser debida al consumo de moscas y otros invertebrados que actuaran como vectores mecánicos de ambos parásitos (Graczyk *et al.*, 2003; Szostakowska *et al.*, 2004; Conn *et al.*, 2007; Fetene *et al.*, 2011; Zhao *et al.*, 2014). La identificación de los genotipos A, B y E de *G. duodenalis* en reptiles, también presentes en las ganaderías gallegas (Castro-Hermida *et al.*, 2007), podría reflejar la importancia que los rumiantes domésticos tienen en la dispersión de *Giardia*.

Como se ha comentado anteriormente, en estudios previos realizados en Galicia, se correlacionó positivamente la tasa de contaminación ambiental por *Giardia* y *Cryptosporidium* con los niveles de actividad ganadera en la región. Por tanto, se sugirió que los rumiantes domésticos actúan como un importante reservorio de la giardiosis y la cryptosporidiosis, siendo posiblemente la principal fuente de contaminación ambiental y, consecuentemente, responsables de su transmisión a la fauna salvaje. De igual forma, las prácticas agrícolas aplicadas en la región contribuyen a aumentar la contaminación ambiental. Los residuos y purines generados por las explotaciones ganaderas se aplican directamente sobre los pastos y tierras de cultivo como fertilizantes, sin un tratamiento previo. Además, la elevada pluviosidad característica de la región gallega facilita el transporte de las formas infectantes hacia los numerosos cursos de agua existentes en Galicia (Castro-Hermida *et al.*, 2011a, 2015). También, los efluentes de estaciones depuradoras de aguas residuales, así como la descarga de aguas residuales brutas, contribuyen a la contaminación de la red fluvial por ambos protozoos, puesta ya de



manifiesto en estudios previos realizados en esta zona geográfica (Gómez-Couso *et al.*, 2005a; Castro-Hermida *et al.*, 2008, 2009).

Como consecuencia de la propia dinámica del sistema fluvial, en los ríos se produce un flujo de materia y energía desde la cabecera hasta la desembocadura. De forma similar, este flujo pasa por las distintas comunidades bióticas que continuamente aprovechan y transforman la materia y energía que reciben. Así, los productores primarios sirven de alimento para el zooplankton, entre el que figuran organismos como los rotíferos, demostrados captadores de quistes de *Giardia* y de ooquistes de *Cryptosporidium* (Fayer *et al.*, 2000b; Trout *et al.*, 2002; Stott *et al.*, 2003; Nowosad *et al.*, 2007). A su vez, el zooplankton forma parte de la dieta de ciertos macroinvertebrados, de algunos peces y de muchas especies de aves acuáticas (Cobo Gradín y Vieira Lanero, 2005). Por tanto, cabría esperar que, al igual que otros animales situados en un nivel trófico superior, la comunidad de macroinvertebrados bentónicos, entre la cual se encuentran especies filtradoras, colectoras, descomponedoras, depredadoras..., pueda ser portadora de las formas de resistencia de *Giardia* y *Cryptosporidium*. A este respecto, los resultados obtenidos en el presente trabajo tras el análisis de muestras de macroinvertebrados bentónicos recogidas en varios ríos gallegos demostraron la presencia de ambos protozoos en estos organismos, detectándose quistes de *Giardia* y ooquistes de *Cryptosporidium* en 3,1% y 12,5% de las muestras, respectivamente.

Los macroinvertebrados bentónicos se consideran excelentes indicadores de la calidad del agua, ya que se encuentran en todo momento expuestos a los cambios físicos, químicos y/o biológicos que se producen en el medio acuático. Al ser su diversidad tan elevada, presentan niveles variables de tolerancia a las diferentes alteraciones del medio y distintos tiempos mínimos de recolonización. Así, el análisis de esta comunidad puede indicar si el medio ha sufrido alteraciones que no se reflejan en los análisis físico-químicos rutinarios (Alba-Tercedor, 1996). Además, estos organismos presentan una serie de ventajas con respecto a otros componentes de la biota acuática: (1) están presentes prácticamente en todos los sistemas acuáticos continentales, posibilitando la realización de estudios comparativos; (2) algunos presentan una naturaleza sedentaria, permitiendo así la realización de un análisis espacial de los efectos de las perturbaciones ambientales; (3) los muestreos cuantitativos y el análisis de las muestras se realizan con equipos simples y de bajo coste; y, (4) se dispone de métodos e índices para el análisis de

los datos que han sido validados en diferentes ríos del mundo (Rosenberg y Resh, 1993). Ante estas cualidades, la DMA incluye a estos organismos como uno de los indicadores biológicos que se deben estudiar para establecer el estado ecológico de las masas de agua (Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de octubre de 2000).

Por otra parte, la calidad del agua es, a nivel mundial y por diferentes circunstancias, un importante problema de salud pública. De hecho, numerosas enfermedades infecciosas tienen un mecanismo de transmisión hídrico, siendo las de etiología vírica y bacteriana las más ampliamente documentadas. Sin embargo, en la actualidad, se dispone de abundante información que evidencia la transmisión hídrica de las dos zoonosis parasitarias contempladas en la presente memoria: la giardiosis y la cryptosporidiosis (Baldursson y Karanis, 2011). La legislación vigente establece la determinación de ciertos microorganismos indicadores, como *Escherichia coli* y otros coliformes fecales, para valorar la contaminación humana/animal de las aguas destinadas a distintos fines (BOE núm. 45, de 21 de febrero de 2003; BOE núm. 183, de 30 de julio de 2016). No obstante, diversos estudios demuestran la ausencia de correlación entre las bacterias utilizadas comúnmente como indicadoras de contaminación fecal y la presencia de *Giardia* y *Cryptosporidium* (Wilkes *et al.*, 2009; Helmi *et al.*, 2011).

Actualmente, los métodos recomendados para la detección de estos protozoos en muestras hídricas requieren la filtración de grandes volúmenes de agua y su posterior concentración previa al análisis (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos, 2005). Se trata de procesos muy costosos y laboriosos. Además, presentan la limitación de que, al tratarse de muestreos puntuales, la no detección de las formas parasitarias no tiene por qué corresponderse con su ausencia en la masa de agua analizada. Así, la presencia y transporte de las formas de resistencia de estos protozoos en los cursos de agua dependen de características propias del medio, pudiendo existir factores ambientales o físico-químicos que influyan en la concentración o en la distribución espacio-temporal de los quistes de *Giardia* y ooquistes de *Cryptosporidium*. Por otra parte, en distintos programas de biomonitorización ambiental se han empleado organismos que se alimentan por filtración para poner de manifiesto la contaminación química por distintos elementos que se acumulan en sus tejidos. Ciertas particularidades de estas especies, como su amplia distribución, su comportamiento sedentario, su

idoneidad para el cultivo y para estudios experimentales, hacen de ellas unos bioindicadores de elección al actuar como organismos centinela (Palos-Ladeiro *et al.*, 2013). Teniendo en cuenta que los macroinvertebrados bentónicos se muestrean de forma rutinaria en los cursos fluviales para establecer el estado ecológico de los mismos y habiendo demostrado la presencia de *Giardia* y *Cryptosporidium* en estos organismos, su utilización podría representar una alternativa o un complemento a los métodos habitualmente empleados en la detección de estos enteropatógenos de transmisión hídrica.

Puesta de manifiesto la contaminación por *Giardia* y *Cryptosporidium* de los ríos gallegos y siguiendo la propia dinámica fluvial, las formas de resistencia de ambos enteropatógenos son arrastradas aguas abajo hacia la costa, alcanzando los estuarios y las rías y penetrando en la cadena trófica del sistema marino (Fayer *et al.*, 2004). Así, la presencia de quistes de *Giardia* y de ooquistes de *Cryptosporidium* se ha denunciado no solo en ríos, aguas residuales brutas y depuradas que vierten a la costa gallega, sino también en moluscos bivalvos de interés comercial cultivados en estas aguas litorales (Gómez-Couso *et al.*, 2004, 2005a,b, 2006b; Castro-Hermida *et al.*, 2011a).

Por otra parte, es conocida la gran fertilidad que presentan las rías gallegas, que por sus especiales características (situación geográfica, orientación y dinámica) están consideradas como uno de los ecosistemas marinos de mayor diversidad biológica del planeta. Fruto del afloramiento marino y del aporte de las aguas fluviales, la abundancia de productores primarios se ve multiplicada, reactivando así una compleja red trófica coronada por las especies de cetáceos (Fraga, 1981; Pierce *et al.*, 2010). De esta forma, en la plataforma continental gallega, se han registrado 22 especies de estos mamíferos marinos, algunas de las cuales no migran a gran escala y habitan permanentemente en las aguas costeras de esta región, donde se registra una de las tasas de varamientos más elevadas de Europa (López *et al.*, 2002; Pierce *et al.*, 2010; López, 2011).

Los mamíferos marinos son susceptibles de padecer infecciones de diversa etiología. Además, la degradación del medio, la contaminación química, la interacción con la industria pesquera, el ruido y el tráfico marítimo pueden incrementar su estrés, disminuyendo su respuesta inmunitaria y facilitando la adquisición de infecciones causadas por patógenos oportunistas

(Van Bresseem *et al.*, 2009). La información existente sobre la presencia de *Giardia* y *Cryptosporidium* en mamíferos marinos es escasa y se restringe a estudios realizados en diversas áreas de Norteamérica (Hughes-Hanks *et al.*, 2005; Santín *et al.*, 2005; Lasek-Nesselquist *et al.*, 2008, 2010; Appelbee *et al.*, 2010; Bass *et al.*, 2012), del continente Antártico (Rengifo-Herrera *et al.*, 2011, 2013), del mar Rojo (Kleinertz *et al.*, 2014) y de Australia (Delpont *et al.*, 2014), reportándose, además, casos esporádicos en Brasil y Venezuela (Altieri *et al.*, 2007; Arias León *et al.*, 2008). Los resultados presentados en esta memoria constituyen el primer estudio en el que se investigó la presencia de ambos protozoos parásitos en mamíferos marinos varados en la costa atlántica europea.

Así, de las 198 muestras de contenido intestinal analizadas y pertenecientes a nueve especies de mamíferos marinos, se comprobó la presencia de *Giardia* y *Cryptosporidium* en 7,6% y 10,6% de las muestras, respectivamente, constituyendo la primera descripción de *G. duodenalis* en el rorcual aliblanco (*B. acutorostrata*), en el cachalote pigmeo (*Kogia breviceps*) y en el delfín listado (*S. coeruleoalba*). También, representan la primera cita para *Cryptosporidium* sp. en el rorcual aliblanco y de *C. parvum* en el delfín listado, en el delfín mular (*T. truncatus*) y en el delfín común (*D. delphis*).

En nuestro estudio, la caracterización molecular de los aislados permitió identificar los genotipos A, B, C, D y F de *G. duodenalis* en estos animales, cuya presencia ya fue reportada en diferentes especies de mamíferos marinos a nivel mundial, principalmente en pinnípedos. Entre estas especies se detectaron los genotipos zoonóticos A y B, los genotipos C y D propios de cánidos, y también el genotipo H específico de estos hospedadores (Gaydos *et al.*, 2008; Appelbee *et al.*, 2010; Lasek-Nesselquist *et al.*, 2010). Sin embargo, en cetáceos tan solo está descrita la presencia de los genotipos A y B de *G. duodenalis* (Lasek-Nesselquist *et al.*, 2008). Aunque nuestros hallazgos no permiten confirmar la existencia de verdaderas infecciones en estos animales, estudios previos realizados en focas capuchinas (*Cystophora cristata*) y focas de Groenlandia (*Pagophilus groenlandicus*) del Ártico canadiense demostraron, mediante técnicas histológicas y de biología molecular, la presencia de trofozoítos pertenecientes al genotipo A de *G. duodenalis* (Appelbee *et al.*, 2010). Por tanto, es probable que otras especies de mamíferos marinos se encuentren también infectadas por este protozoo. Con respecto a *Cryptosporidium*, todos los aislados que se caracterizaron molecularmente en el presente estudio se

identificaron como pertenecientes a la especie zoonótica *C. parvum*. *Cryptosporidium* ya se reportó en diferentes especies de pinnípedos (Deng *et al.*, 2000; Santín *et al.*, 2005; Rengifo-Herrera *et al.*, 2011, 2013; Bass *et al.*, 2012), siendo más escasos los hallazgos realizados en cetáceos (Hughes-Hanks *et al.*, 2005; Bogomolni *et al.*, 2008).

La detección de especies/genotipos de *Giardia* y *Cryptosporidium* frecuentemente identificadas en mamíferos terrestres (genotipos A y B de *G. duodenalis* y *C. parvum*), así como de genotipos específicos de cánidos (genotipos C y D de *G. duodenalis*) y de félidos (genotipo F de *G. duodenalis*) evidencia la propagación de las correspondientes formas parasitarias desde el medio terrestre al marino, siendo además indicativa del impacto antrópico sobre este último. En un reciente estudio en el que se evaluó la relación entre la presencia de *Giardia* en leones marinos australianos (*Neophoca cinerea*) y su interacción con las poblaciones humanas, Delport *et al.* (2014) comprobaron unas mayores prevalencias en las colonias que habitaban cerca de poblaciones costeras o de vertidos de aguas residuales. De forma similar, la infección por *Cryptosporidium* se describió mediante microscopía electrónica en un dugongo (*Dugong dugon*) procedente de una zona costera australiana (Hill *et al.*, 1997). La posterior caracterización molecular del aislado lo identificó como correspondiente a *C. hominis*, especie propia del ser humano (Morgan *et al.*, 2000).

La adquisición de *Giardia* y *Cryptosporidium* por los mamíferos marinos, al ser animales que no beben agua, tiene que producirse principalmente a través de la cadena alimenticia, mediante el consumo de peces, cefalópodos u otras presas que constituyen su dieta habitual (Méndez-Fernández *et al.*, 2012). De forma similar a lo comprobado en los macroinvertebrados bentónicos, los invertebrados marinos también pueden filtrar y concentrar formas de resistencia de estos protozoos, tal como se ha demostrado en estudios previos realizados con diferentes especies de moluscos bivalvos y con pequeños crustáceos como *Artemia franciscana*, copépodo que forma parte de la dieta de peces y moluscos (Fayer *et al.*, 2004; Gómez Couso, 2005; Méndez-Hermida *et al.*, 2006; Robertson, 2007). Así, las formas infectantes entran en la cadena alimenticia, pudiendo ser adquiridas por especies situadas en un nivel trófico superior. En este sentido, varios autores identificaron diversas especies/genotipos de *Giardia* y *Cryptosporidium* en peces marinos, incluyendo los genotipos A y B de *G. duodenalis* y *C. parvum* (Reid *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2010; Koinari *et al.*, 2013).

Como está ampliamente reconocido, los mamíferos marinos son los mejores indicadores de la salud de los ambientes marinos y costeros (Bossart, 2011). De esta forma, los resultados de prevalencia obtenidos para *Giardia* y *Cryptosporidium* en las 133 muestras analizadas de delfín común (6,0% y 9,0%, respectivamente), cetáceo más abundante en la costa gallega con una población estimada de 7 000-10 000 individuos, considerando los registros de varamientos, avistamientos y capturas accidentales (López *et al.*, 2004), demuestran la amplia dispersión de estos enteroparásitos en el ambiente marino de Galicia. Además, la identificación de los genotipos zoonóticos A y B de *G. duodenalis* y de *C. parvum* en estos animales, sugiere, una vez más, que las actividades antrópicas son el origen de la contaminación marina.

Como hemos comentado al inicio de la presente sección y aunque no forman parte del actual compendio de publicaciones, se dispuso de 40 muestras pertenecientes a 16 especies de mamíferos terrestres que fueron analizadas aplicando la metodología descrita previamente. *Giardia* se detectó en dos muestras de ratón de campo (*Apodemus sylvaticus*). El análisis y secuenciación de un fragmento de la ITS1-5.8S-ITS2 reveló, en ambos aislados, una secuencia próxima a la correspondiente a *G. muris* (número de acceso al GenBank GU126450), aunque mostró numerosos polimorfismos nucleotídicos con respecto a esta última. Además, en una de estas muestras se observaron ooquistes de *Cryptosporidium* sp. También, se detectaron ooquistes de *Cryptosporidium* sp. en la única muestra disponible de conejo común (*O. cuniculus*) y se identificó *C. parvum* en una ardilla (*Sciurus vulgaris*). En una muestra de tejón (*Meles meles*) se identificaron tanto el genotipo A de *G. duodenalis* como *C. parvum*. De las ocho muestras fecales de corzo (*C. capreolus*) donadas por los CRFS de Galicia, se observaron quistes de *Giardia* sp. y ooquistes de *Cryptosporidium* sp. en una muestra. Estudios previos realizados en corzos de esta región mostraron la presencia de ambos protozoos en este hospedador, con unos bajos valores de prevalencia, identificándose el genotipo A<sub>2</sub> de *G. duodenalis* y las especies *C. bovis* y *C. ryanae* (Castro-Hermida *et al.*, 2011b; García-Presedo *et al.*, 2013b). Aunque estas mismas especies y genotipos también fueron identificados en el jabalí (*Sus scrofa*) en Galicia (Castro-Hermida *et al.*, 2011b; García-Presedo *et al.*, 2013a), en el presente estudio las dos muestras disponibles de este hospedador resultaron negativas para ambos parásitos.

La interpretación global de los resultados obtenidos tras el análisis de 734 muestras correspondientes a 433 aves (64 especies), 31 reptiles (7 especies), 32 comunidades de macroinvertebrados bentónicos, 198 mamíferos marinos (9 especies) y 40 mamíferos terrestres (16 especies) permite comprobar la amplia dispersión de *Giardia* y *Cryptosporidium* entre la fauna salvaje de Galicia. En general, la caracterización molecular de los aislados reveló que *G. duodenalis* y *C. parvum* fueron las especies identificadas con mayor frecuencia, no detectándose, a excepción de dos aislados próximos a *G. muris* en ratón de campo y de un aislado de *C. meleagridis* en una tórtola europea, especies o genotipos propios de las distintas clases de hospedadores analizados. El hecho de que los genotipos y especies de *Giardia* y *Cryptosporidium* identificados en este estudio presenten una gran variedad de hospedadores, incluyendo al hombre, a los animales de compañía y al ganado, sugiere que las actividades de origen antrópico pueden constituir la principal fuente de contaminación para la fauna salvaje. Además, independientemente de la necesidad de confirmar si los animales salvajes sufren una verdadera infección o si actúan como meros diseminadores de la contaminación, en nuestra opinión no puede afirmarse que la fauna salvaje represente un reservorio importante de la giardiosis y la cryptosporidiosis en Galicia.

Finalmente, desde el punto de vista de una “Salud Compartida” y teniendo en cuenta la interacción entre la fauna salvaje, el hombre, los animales domésticos y el medioambiente, creemos que es necesario considerar que no siempre la fauna salvaje es responsable de la dispersión de enfermedades infecciosas, sino que en numerosas ocasiones son las actividades antropogénicas las que pueden favorecer la introducción de agentes patógenos en el medio natural, siendo por tanto los animales salvajes víctimas de la contaminación humana.









Conclusiones



### PRIMERA

El análisis parasitológico de 734 muestras correspondientes a 433 aves (64 especies), 31 reptiles (7 especies), 32 comunidades de macroinvertebrados bentónicos, 198 mamíferos marinos (9 especies) y 40 mamíferos terrestres (16 especies) permitió comprobar la amplia dispersión de *Giardia* y *Cryptosporidium* entre la fauna salvaje de Galicia.

### SEGUNDA

Habiéndose demostrado la presencia de *Giardia* y *Cryptosporidium* en todas las clases de vertebrados estudiadas e independientemente de la necesidad de confirmar si se trata de verdaderas infecciones o si los animales son meros diseminadores de la contaminación, los resultados del presente estudio amplían el número de especies que albergan ambos parásitos, reforzando así la hipótesis de que estos protozoos poseen un amplio rango de hospedadores entre la fauna salvaje.

### TERCERA

El hecho de que mayoritariamente se identifiquen los genotipos A y B de *G. duodenalis* y la especie *C. parvum*, comunes al hombre, a los animales domésticos y al ganado, en lugar de aquellos genotipos/especies propios de las distintas clases de hospedadores analizados, sugiere que la fuente de infección/contaminación para la fauna salvaje deriva de las actividades antropogénicas. Por tanto, no se puede afirmar que estos animales representen un importante reservorio de la giardiosis y la cryptosporidiosis en Galicia.

### CUARTA

La identificación de *C. meleagridis* en la tórtola europea (*S. turtur*) amplía el rango de hospedadores para este apicomplejo. Al estar considerado *C. meleagridis* un patógeno humano emergente, se plantea la posibilidad de que esta especie de Columbiforme actúe como reservorio de la infección.

#### QUINTA

El hallazgo de genotipos/especies zoonóticos de *G. duodenalis* y *Cryptosporidium* en aves, que viven en una gran diversidad de biotopos y con variados hábitos alimenticios, demuestra que este grupo taxonómico puede ser un excelente indicador de la contaminación ambiental por los citados parásitos. Por el contrario, la presencia de dichos protozoos en lacértidos es indicativa de una contaminación local, al presentar estos reptiles una reducida área de campeo.

#### SEXTA

La contaminación de los macroinvertebrados bentónicos por *Giardia* y *Cryptosporidium* plantea el papel que esta comunidad biótica puede desempeñar en la diseminación de ambos protozoos parásitos, al ser un eslabón fundamental en la cadena trófica acuática. Además, considerando que se muestrean de forma rutinaria para establecer el estado ecológico de las masas de agua, su utilización podría representar una alternativa o un complemento a los métodos habitualmente empleados en la detección de estos enteropatógenos de transmisión hídrica.

#### SÉPTIMA

Siendo el delfín común, *D. delphis*, el cetáceo residente más abundante en las costas gallegas, los resultados de prevalencia obtenidos en este hospedador, junto con la exclusiva identificación de los genotipos A y B de *G. duodenalis* y de *C. parvum*, ponen de manifiesto la amplia dispersión de estos enteroparásitos en el medio marino, consecuencia posiblemente de las actividades humanas.

#### OCTAVA

Desde el punto de vista de una salud compartida, la interpretación global de los resultados obtenidos demuestra que no siempre la fauna salvaje es responsable de la dispersión de enfermedades infecciosas, sino que en este caso las actividades antropogénicas pudieron favorecer la introducción de *Giardia* y *Cryptosporidium* en el medio natural, siendo por tanto la fauna salvaje víctima de la contaminación humana.



Bibliografía



- Abe, N., Read, C., Thompson, R.C.A. e Iseki, M. 2005.** Zoonotic genotype of *Giardia intestinalis* detected in a ferret. *Journal of Parasitology*, **91**: 179-182.
- Abeywardena, H., Jex, A.R. y Gasser, R.B. 2015.** A perspective on *Cryptosporidium* and *Giardia*, with an emphasis on bovines and recent epidemiological findings. *Advances in Parasitology*, **88**: 243-301.
- Abreu-Acosta, N., Foronda-Rodríguez, P., López, M. y Valladares, B. 2009.** Occurrence of *Cryptosporidium hominis* in pigeons (*Columba livia*). *Acta Parasitologica*, **54**: 1-5.
- Acosta, I., Soto, C.J. y Cruz, E. 2008.** *Giardia* spp. (Diplomonadidae) en pericos australianos (*Melopsittacus undulatus*) en Cuba. *Revista de Salud Animal*, **30**: 63-64.
- Adam, R.D. 2001.** Biology of *Giardia lamblia*. *Clinical Microbiology Reviews*, **14**: 447-475.
- Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA). 2005.** Method 1623: *Cryptosporidium* and *Giardia* in Water by Filtration/IMS/FA. USEPA, Cincinnati, Ohio, 76 pp. Disponible en: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-07/documents/epa-1623.pdf>, último acceso 15 de septiembre de 2016.
- Aguirre, A.A. y Tabor, G.M. 2008.** Global factors driving emerging infectious diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1149**: 1-3.
- Alba-Tercedor, J. 1996.** Macroinvertebrados acuáticos y calidad de las aguas de los ríos. IV Simposio del agua en Andalucía (SIAGA), **2**: 203-213.
- Aldeyarbi, H.M. y Karanis, P. 2016.** The ultra-structural similarities between *Cryptosporidium parvum* and the Gregarines. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, **63**: 79-85.
- Aldrey Vázquez, J.A. 2010.** Breve xeografía de Galicia. A Nosa Terra, Vigo, 102 pp.
- Altieri, B., Viana, D. y Meirelles, A. 2007.** Isolation of *Giardia* sp. from an estuarine dolphin (*Sotalia guianensis*) in Ceará State, Northeastern Brazil. *Latin American Journal of Aquatic Mammals*, **6**: 113-116.

- Altizer, S., Ostfeld, R.S., Johnson, P.T.J., Kutz, S. y Harvell, C.D. 2013. Climate change and infectious diseases: from evidence to a predictive framework. *Science*, **341**: 514-519.
- Álvarez-Pellitero, P. y Sitjà-Bobadilla, A. 2002. *Cryptosporidium molnari* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) infecting two marine fish species, *Sparus aurata* L. and *Dicentrarchus labrax* L. *International Journal for Parasitology*, **32**: 1007-1021.
- Amar, C.F., Dear, P.H. y McLauchlin, J. 2004. Detection and identification by real time PCR/RFLP analyses of *Cryptosporidium* species from human faeces. *Letters in Applied Microbiology*, **38**: 217-222.
- Appelbee, A.J., Thompson, R.C. y Olson, M.E. 2005. *Giardia* and *Cryptosporidium* in mammalian wildlife – current status and future needs. *Trends in Parasitology*, **21**: 370-376.
- Appelbee, A.J., Thompson, R.C., Measures, L.M. y Olson, M.E. 2010. *Giardia* and *Cryptosporidium* in harp and hooded seals from the Gulf of St. Lawrence, Canada. *Veterinary Parasitology*, **173**: 19-23.
- Arcos, J.M., Bécares, J., Rodríguez, B. y Ruiz, A. 2009. Áreas importantes para la conservación de las aves marinas en España. SEO/BirdLife, Madrid, 384 pp.
- Arias León, G., Mariani di Lena, M.A., Cornejo Uzcátegui, L., Bermúdez García, V. y Ramírez Medina, O.J. 2008. Estudio de infección sistémica por *Herpesvirus* complicada con *Cryptosporidium* spp., en un delfín manchado del Atlántico (*Stenella frontalis*, Cuvier, 1829). *Revista Científica*, **18**: 243-252.
- Ash, A., Lymbery, A., Lemon, J., Vitali, S. y Thompson, R. 2010. Molecular epidemiology of *Giardia duodenalis* in an endangered carnivore – The African painted dog. *Veterinary Parasitology*, **174**: 206-212.
- Atherholt, T.B., LeChevallier, M., Norton, W. y Rosen, J. 1998. Effect of rainfall on *Giardia* and *Cryptosporidium*. *Journal of American Waterworks Association*, **90**: 66-80.
- Bajer, A. 2008. *Cryptosporidium* and *Giardia* spp. infections in humans, animals and the environment in Poland. *Parasitology Research*, **104**: 1-17.
- Bajer, A., Bednarska, M. y Rodo, A. 2011. Risk factors and control of intestinal parasite infections in sled dogs in Poland. *Veterinary Parasitology*, **175**: 343-350.



- Baldursson, S. y Karanis, P. 2011.** Waterborne transmission of protozoan parasites: review of worldwide outbreaks – An update 2004-2010. *Water Research*, **45**: 6603-6614.
- Ballweber, L.R., Xiao, L., Bowman, D.D., Kahn, G. y Cama, V.A. 2010.** *Giardiasis* in dogs and cats: update on epidemiology and public health significance. *Trends in Parasitology*, **26**: 180-189.
- Banco Mundial 2010.** People, pathogens and our planet. World Bank, Washington DC, 74 pp.
- Bañón, R., Villegas-Ríos, D., Serrano, A., Mucientes, G. y Arronte, J.C. 2010.** Marine fishes from Galicia (NW Spain): an updated checklist. *Zootaxa*, **2667**: 1-27.
- Baroudi, D., Khelef, D., Goucem, R., Adjou, K.T., Adamu, H., Zhang, H. y Xiao, L. 2013.** Common occurrence of zoonotic pathogen *Cryptosporidium meleagridis* in broiler chickens and turkeys in Algeria. *Veterinary Parasitology*, **196**: 334-340.
- Barta, J.R. y Thompson, R.C.A. 2006.** What is *Cryptosporidium*? Reappraising its biology and phylogenetic affinities. *Trends in Parasitology*, **22**: 463-468.
- Bass, A.L., Wallace, C.C., Yund, P.O. y Ford, T.E. 2012.** Detection of *Cryptosporidium* sp. in two new seal species, *Phoca vitulina* and *Cystophora cristata*, and a novel *Cryptosporidium* genotype in a third seal species, *Pagophilus groenlandicus*, from the Gulf of Maine. *Journal of Parasitology*, **98**: 316-322.
- Bates, S.J., Trostle, J., Cevallos, W.T., Hubbard, A. y Eisenberg, J.N.S. 2007.** Relating diarrheal disease to social networks and the geographic configuration of communities in rural Ecuador. *American Journal of Epidemiology*, **166**: 1088-1095.
- Beck, R., Sprong, H., Lucinger, S., Pozio, E. y Cacciò, S.M. 2011a.** A large survey of Croatian wild mammals for *Giardia duodenalis* reveals a low prevalence and limited zoonotic potential. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, **11**: 1049-1055.
- Beck, R., Sprong, H., Bata, I., Lucinger, S., Pozio, E. y Cacciò, S.M. 2011b.** Prevalence and molecular typing of *Giardia* spp. in captive mammals at the zoo of Zagreb, Croatia. *Veterinary Parasitology*, **175**: 40-46.
- Beck, R., Sprong, H., Pozio, E. y Cacciò, S.M. 2012.** Genotyping *Giardia duodenalis* isolates from dogs: lessons from a multilocus sequence typing study. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, **12**: 206-213.

- Benetti, C.J., Pérez-Bilbao, A. y Garrido, J. 2012.** Macroinvertebrates as indicators of water quality in running waters: 10 years of research in rivers with different degrees of anthropogenic impacts. En: *Ecological Water Quality – Water Treatment and Reuse*. Voudouris, K. y Voutsas, D. (Eds.). InTech, Rijeka, pp. 95-122.
- Berrilli, F., Prisco, C., Friedrich, K.G., Di Cerbo, P., Di Cave, D. y De Liberato, C. 2011.** *Giardia duodenalis* assemblages and *Entamoeba* species infecting non-human primates in an Italian zoological garden: zoonotic potential and management traits. *Parasites and Vectors*, **4**: 199.
- Blagburn, B. y Soave, R. 1997.** Prophylaxis and chemotherapy: human and animal. En: *Cryptosporidium and cryptosporidiosis*. Fayer, R. (Ed.). CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 111-128.
- Blanchard, P.C. 2012.** Diagnostics of dairy and beef cattle diarrhea. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, **28**: 443-464.
- Blanco, J.C. 2007.** Situación de los mamíferos terrestres. En: *Atlas y Libro Rojo de los Mamíferos Terrestres de España*. Palomo, L.J., Gisbert, J. y Blanco, J.C. (Eds.). Dirección General para la Biodiversidad -SECEM-SECEMU, Madrid, pp. 71-73.
- Boletín Oficial del Estado (BOE) (núm. 74) de 28 de marzo de 1989.** Ley 4/1989, de 27 de marzo, de conservación de los espacios naturales y de la flora y fauna silvestre.
- Boletín Oficial del Estado (BOE) (núm. 45) de 21 de febrero de 2003.** Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano.
- Boletín Oficial del Estado (BOE) (núm. 299) de 14 de diciembre de 2007.** Ley 42/2007, de 13 de diciembre, del patrimonio natural y de la biodiversidad.
- Boletín Oficial del Estado (BOE) (núm. 183) de 30 de julio de 2016.** Real Decreto 314/2016, de 29 de julio, por el que se modifican el Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano, el Real Decreto 1798/2010, de 30 de diciembre, por el que se regula la explotación y comercialización de aguas minerales naturales y aguas de manantial envasadas para consumo humano, y el Real Decreto 1799/2010, de 30 de diciembre, por el que se regula

- el proceso de elaboración y comercialización de aguas preparadas envasadas para el consumo humano.
- Bogomolni, A.L., Gast, R.J., Ellis, J.C., Dennett, M., Pugliares, K.R., Lentell, B.J. y Moore, M.J. 2008.** Victims or vectors: a survey of marine vertebrate zoonoses from coastal waters of the Northwest Atlantic. *Diseases of Aquatic Organisms*, **81**: 13-38.
- Bomfim, T., Huber, F., Gomes, R. y Alves, L. 2005.** Natural infection by *Giardia* sp. and *Cryptosporidium* sp. in dairy goats, associated with possible risk factors of the studied properties. *Veterinary Parasitology*, **134**: 9-13.
- Bornay-Llinares, F.J., da Silva, A.J., Moura, I.N.S., Myjak, P., Pietkiewicz, H., Kruminis-Łozowska, W., Graczyk, T.K. y Pieniazek, N.J. 1999.** Identification of *Cryptosporidium felis* in a cow by morphologic and molecular methods. *Applied and Environmental Microbiology*, **65**: 1455-1458.
- Bossart, G.D. 2011.** Marine mammals as sentinel species for oceans and human health. *Veterinary Pathology*, **48**: 676-690.
- Bougiouklis, P.A., Weissenböck, H., Wells, A., Miller, W.A., Palmieri, C. y Shivaprasad, H.L. 2013.** Otitis media associated with *Cryptosporidium baileyi* in a Saker Falcon (*Falco cherrug*). *Journal of Comparative Pathology*, **148**: 419-423.
- Bouزيد, M., Halai, K., Jeffreys, D. y Hunter, P.R. 2015.** The prevalence of *Giardia* infection in dogs and cats, a systematic review and meta-analysis of prevalence studies from stool samples. *Veterinary Parasitology*, **207**: 181-202.
- Bradley, C.A. y Altizer, S. 2007.** Urbanization and the ecology of wildlife diseases. *Trends in Ecology and Evolution*, **22**: 95-102.
- Brearley, G., Rhodes, J., Bradley, A., Baxter, G., Seabrook, L., Lunney, D., Liu, Y. y McAlpine, C. 2013.** Wildlife disease prevalence in human-modified landscapes. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, **88**: 427-442.
- Brooks, D.R. y Hoberg, E.P. 2007.** How will global climate change affect parasite-host assemblages? *Trends in Parasitology*, **23**: 571-574.

- Brooks, T.M., Mittermeier, R.A., da Fonseca, G.A., Gerlach, J., Hoffmann, M., Lamoreux, J.F., Mittermeier, C.G., Pilgrim, J.D. y Rodrigues, A.S. 2006. Global biodiversity conservation priorities. *Science*, **313**: 58-61.
- Butchart, S.H., Walpole, M., Collen, B., van Strien, A., Scharlemann, J.P., Almond, R.E., Baillie, J.E., Bomhard, B., Brown, C., Bruno, J., Carpenter, K.E., Carr, G.M., Chanson, J., Chenery, A.M., Csirke, J., Davidson, N.C., Dentener, F., Foster, M., Galli, A., Galloway, J.N., Genovesi, P., Gregory, R.D., Hockings, M., Kapos, V., Lamarque, J.F., Leverington, F., Loh, J., McGeoch, M.A., McRae, L., Minasyan, A., Hernández Morcillo, M., Oldfield, T.E., Pauly, D., Quader, S., Revenga, C., Sauer, J.R., Skolnik, B., Spear, D., Stanwell-Smith, D., Stuart, S.N., Symes, A., Tierney, M., Tyrrell, T.D., Vie, J.C. y Watson, R. 2010. Global biodiversity: indicators of recent declines. *Science*, **328**: 1164-1168.
- Buttke, D.E., Decker, D.J. y Wild, M.A. 2015. The role of one health in wildlife conservation: a challenge and opportunity. *Journal of Wildlife Diseases*, **51**: 1-8.
- Cabada, M.M. y White Jr, A.C. 2010. Treatment of cryptosporidiosis: do we know what we think we know? *Current Opinion in Infectious Diseases*, **23**: 494-499.
- Cacciò, S.M. 2005. Molecular epidemiology of human cryptosporidiosis. *Parassitologia*, **47**: 185-192.
- Cacciò, S.M. 2015. Giardiasis: a zoonotic infection or not? En: *Zoonoses - Infections affecting humans and animals*. Sing, A. (Ed.). Springer, Heidelberg, pp. 821-848.
- Cacciò, S.M. y Putignani, L. 2014. Epidemiology of human cryptosporidiosis. En: *Cryptosporidium: parasite and disease*. Cacciò, S.M. y Widmer, G. (Eds.). Springer, Viena, pp. 43-79.
- Cacciò, S.M. y Widmer, G. 2014. *Cryptosporidium: parasite and disease*. Springer, Viena, 564 pp.
- Cacciò, S.M., Thompson, R.C., McLauchlin, J. y Smith, H.V. 2005. Unravelling *Cryptosporidium* and *Giardia* epidemiology. *Trends in Parasitology*, **21**: 430-437.
- Cama, V.A., Bern, C., Roberts, J., Cabrera, L., Sterling, C.R., Ortega, Y., Gilman, R.H. y Xiao, L. 2008. *Cryptosporidium* species and subtypes and clinical manifestations in children, Peru. *Emerging Infectious Diseases*, **14**: 1567-1574.

- Cano, L., de Lucio, A., Bailo, B., Cardona, G.A., Muadica, A.S., Lobo, L. y Carmena, D. 2016. Identification and genotyping of *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. isolates in aquatic birds in the Salburua wetlands, Álava, Northern Spain. *Veterinary Parasitology*, **221**: 144-148.
- Cardinale, B.J., Duffy, J.E., Gonzalez, A., Hooper, D.U., Perrings, C., Venail, P., Narwani, A., Mace, G.M., Tilman, D., Wardle, D.A., Kinzig, A.P., Daily, G.C., Loreau, M., Grace, J.B., Larigauderie, A., Srivastava, D.S. y Naeem, S. 2012. Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature*, **486**: 59-67.
- Carignan, V. y Villard, M.-A. 2002. Selecting indicator species to monitor ecological integrity: a review. *Environmental Monitoring and Assessment*, **78**: 45-61.
- Castro-Hermida, J.A., González-Losada, Y.A. y Ares-Mazás, E. 2002a. Prevalence of and risk factors involved in the spread of neonatal bovine cryptosporidiosis in Galicia (NW Spain). *Veterinary Parasitology*, **106**: 1-10.
- Castro-Hermida, J.A., González-Losada, Y.A., Mezo-Menéndez, M. y Ares-Mazás, E. 2002b. A study of cryptosporidiosis in a cohort of neonatal calves. *Veterinary Parasitology*, **106**: 11-17.
- Castro-Hermida, J.A., Carro-Corral, C., González-Warleta, M. y Mezo, M. 2006. Prevalence and intensity of infection of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* in dairy cattle in Galicia (NW Spain). *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, **53**: 244-246.
- Castro-Hermida, J.A., Almeida, A., González-Warleta, M., da Costa, J.M.C., Rumbo-Lorenzo, C. y Mezo, M. 2007. Occurrence of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia duodenalis* in healthy adult domestic ruminants. *Parasitology Research*, **101**: 1443-1448.
- Castro-Hermida, J.A., García-Presedo, I., Almeida, A., González-Warleta, M., Da Costa, J.M.C. y Mezo, M. 2008. Contribution of treated wastewater to the contamination of recreational river areas with *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis*. *Water Research*, **42**: 3528-3538.
- Castro-Hermida, J.A., García-Presedo, I., Almeida, A., González-Warleta, M., Correia Da Costa, J.M. y Mezo, M. 2009. Detection of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* in surface water: a health risk for humans and animals. *Water Research*, **43**: 4133-4142.

- Castro-Hermida, J.A., García-Presedo, I., González-Warleta, M. y Mezo, M. 2010. *Cryptosporidium* and *Giardia* detection in water bodies of Galicia, Spain. *Water Research*, **44**: 5887-5896.
- Castro-Hermida, J.A., García-Presedo, I., González-Warleta, M. y Mezo, M. 2011a. Prevalence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in roe deer (*Capreolus capreolus*) and wild boars (*Sus scrofa*) in Galicia (NW Spain). *Veterinary Parasitology*, **179**: 216-219.
- Castro-Hermida, J.A., García-Presedo, I., Almeida, A., González-Warleta, M., Correia Da Costa, J.M. y Mezo, M. 2011b. *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* in two areas of Galicia (NW Spain). *Science of the Total Environment*, **409**: 2451-2459.
- Castro-Hermida, J.A., González-Warleta, M. y Mezo, M. 2015. *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* as pathogenic contaminants of water in Galicia, Spain: the need for safe drinking water. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, **218**: 132-138.
- Chalmers, R.M., Ferguson, C., Cacciò, S., Gasser, R.B., Abs El-Osta, Y.G., Heijnen, L., Xiao, L., Elwin, K., Hadfield, S., Sinclair, M. y Stevens, M. 2005. Direct comparison of selected methods for genetic categorisation of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* species. *International Journal for Parasitology*, **35**: 397-410.
- Chalmers, R.M., Elwin, K., Hadfield, S.J. y Robinson, G. 2011. Sporadic human cryptosporidiosis caused by *Cryptosporidium cuniculus*, United Kingdom, 2007-2008. *Emerging Infectious Diseases*, **17**: 536-538.
- Chardonnet, P., des Clers, B., Fischer, J., Gerhold, R., Jori, F. y Lamarque, F. 2002. The value of wildlife. *Revue Scientifique et Technique, Office International des Epizooties*, **21**: 15-51.
- Chen, F. y Huang, K. 2012. Prevalence and molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in dairy cattle from farms in China. *Journal of Veterinary Science*, **13**: 15-22.
- Chilvers, B.L., Cowan, P.E., Waddington, D.C., Kelly, P.J. y Brown, T.J. 1998. The prevalence of infection of *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. in wild animals on farmland, southeastern North Island, New Zealand. *International Journal of Environmental Health Research*, **8**: 59-64.
- Clavel, A., Doiz, O., Morales, S., Varea, M., Seral, C., Castillo, F.J., Fleta, J., Rubio, C. y Gómez-Lus, R. 2002. House fly (*Musca domestica*) as a transport vector of *Cryptosporidium parvum*. *Folia Parasitologica*, **49**: 163-164.

- Cobo Gradín, F. y Vieira Lanero, R. 2005.** O río como ecosistema. *ADEGA Cadernos*, **14**: 9-14.
- Cobo Gradín, F., Vieira Lanero, R. y Servia García, M.J. 2011.** Turistas indeseados: ritmo de entrada de especies exóticas en los medios acuáticos gallegos en el último siglo. *Cuadernos de Biodiversidad*, **34**: 8-11.
- Conn, D.B., Weaver, J., Tamang, L. y Graczyk, T.K. 2007.** Synanthropic flies as vectors of *Cryptosporidium* and *Giardia* among livestock and wildlife in a multispecies agricultural complex. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, **7**: 643-651.
- Consellería de Medio Ambiente. 2003.** Estratexia galega para a conservación e o uso sostible da biodiversidade. Consellería de Medio Ambiente, Dirección Xeral de Conservación da Natureza, Santiago de Compostela, 209 pp.
- Cook, R., Karesh, W. y Osofsky, S. 2004.** The Manhattan principles on 'one world one health'. *Building interdisciplinary bridges to health in a globalized world*. New York, NY: Wildlife Conservation Society.
- Coulson, J.O., Taft, S.J. y Coulson, T.D. 2010.** Gastrointestinal parasites of the Swallow-Tailed Kite (*Elanoides forficatus*), including a report of lesions associated with the nematode *Dispharynx* sp. *Journal of Raptor Research*, **44**: 208-214.
- Cox, F.E.G. 2002.** History of human parasitology. *Clinical Microbiology Reviews*, **15**: 595-612.
- Current, W.L., Upton, S.J. y Haynes, T.B. 1986.** The life cycle of *Cryptosporidium baileyi* n. sp. (Apicomplexa, Cryptosporidiidae) infecting chickens. *Journal of Protozoology*, **33**: 289-296.
- Daszak, P., Cunningham, A.A. y Hyatt, A.D. 2000.** Emerging infectious diseases of wildlife—threats to biodiversity and human health. *Science*, **287**: 443-449.
- Daszak, P., Cunningham, A.A. y Hyatt, A.D. 2001.** Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife. *Acta Tropica*, **78**: 103-116.
- de Graaf, D.C., Vanopdenbosch, E., Ortega-Mora, L.M., Abbassi, H. y Peeters, J.E. 1999.** A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. *International Journal for Parasitology*, **29**: 1269-1287.
- Delport, T.C., Asher, A.J., Beaumont, L.J., Webster, K.N., Harcourt, R.G. y Power, M.L. 2014.** *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* occurrence in Australian sea lions (*Neophoca*



- cinerea*) exposed to varied levels of human interaction. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, **3**: 269-275.
- Deming, C., Greiner, E. y Uhl, E.W. 2008.** Prevalence of *Cryptosporidium* infection and characteristics of oocyst shedding in a breeding colony of leopard geckos (*Eublepharis macularius*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, **39**: 600-607.
- Deng, M.Q., Peterson, R.P. y Cliver, D.O. 2000.** First findings of *Cryptosporidium* and *Giardia* in California sea lions (*Zalophus californianus*). *Journal of Parasitology*, **86**: 490-494.
- Diario Oficial de Galicia (DOG) (núm. 171) de 4 de septiembre de 2001.** Ley 9/2001, de 21 de agosto, de conservación de la naturaleza.
- Diario Oficial de Galicia (DOG) (núm. 89) de 9 de mayo de 2007.** Decreto 88/2007, de 19 de abril, por el que se regula el Catálogo gallego de especies amenazadas.
- Díaz d'a Silva, J.I. y Cartelle Serantes, Y. 2007.** Guía dos mamíferos de Galicia. Baía Edicións, A Coruña, 208 pp.
- Díaz, P., Rota, S., Marchesi, B., López, C., Panadero, R., Fernández, G., Díez-Baños, P., Morrondo, P. y Poglayen, G. 2013.** *Cryptosporidium* in pet snakes from Italy: molecular characterization and zoonotic implications. *Veterinary Parasitology*, **197**: 68-73.
- Dillingham, R.A., Lima, A.A. y Guerrant, R.L. 2002.** Cryptosporidiosis: epidemiology and impact. *Microbes and Infection*, **4**: 1059-1066.
- Directiva 92/43/CEE del Consejo de 21 de mayo de 1992.** Directiva relativa a la conservación de los hábitats naturales y de la fauna y flora silvestres. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas L*, **206**: 7-50.
- Directiva Europea 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de octubre de 2000.** Directiva por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas L*, **327**: 1-73.
- Directiva 2009/147/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 30 de noviembre de 2009.** Directiva relativa a la conservación de las aves silvestres que reemplaza a la Directiva 79/409/CEE del Consejo, de 2 de abril de 1979, relativa a la conservación de las aves silvestres. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas L*, **20**: 7-25.



- Dixon, B.R., Parrington, L.J., Parenteau, M., Leclair, D., Santín, M. y Fayer, R. 2008. *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. in the intestinal contents of ringed seals (*Phoca hispida*) and bearded seals (*Erignathus barbatus*) in Nunavik, Quebec, Canada. *Journal of Parasitology*, **94**: 1161-1163.
- Doadrio, I., Elvira, B. y Bernat, Y. 2006. Cuenca de Galicia. En: *Peces continentales españoles. Inventario y clasificación de zonas fluviales*. Doadrio, I., Elvira, B. y Bernat, Y. (Eds). Ministerio de Medio Ambiente. Disponible en: [http://www.magrama.gob.es/es/biodiversidad/temas/conservacion-de-especies-amenazadas/cap3\\_2\\_2\\_tcm7-21333.pdf](http://www.magrama.gob.es/es/biodiversidad/temas/conservacion-de-especies-amenazadas/cap3_2_2_tcm7-21333.pdf), último acceso 15 de septiembre de 2016.
- Dobell, C. 1921. A report on the occurrence of intestinal Protozoa in the inhabitants of Britain with special reference to *Entamoeba histolytica*, Medical Research Council, Londres, 84 pp.
- Dobell, C. 1932. Antony van Leeuwenhoek and his "little animals". John Bale Sons and Danielsson, Londres, 520 pp.
- Drumo, R., Widmer, G., Morrison, L.J., Tait, A., Grelloni, V., D'Avino, N., Pozio, E. y Cacciò, S.M. 2012. Evidence of host-associated populations of *Cryptosporidium parvum* in Italy. *Applied and Environmental Microbiology*, **78**: 3523-3529.
- Dyachenko, V., Kuhnert, Y., Schmaeschke, R., Etzold, M., Pantchev, N. y Dauschies, A. 2010. Occurrence and molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. genotypes in European hedgehogs (*Erinaceus europaeus* L.) in Germany. *Parasitology*, **137**: 205-216.
- Elwin, K., Hadfield, S.J., Robinson, G., Crouch, N.D. y Chalmers, R.M. 2012. *Cryptosporidium viatorum* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) among travellers returning to Great Britain from the Indian subcontinent, 2007–2011. *International Journal for Parasitology*, **42**: 675-682.
- Erlandsen, S.L. y Bemrick, W.J. 1987. SEM evidence for a new species, *Giardia psittaci*. *Journal of Parasitology*, **73**: 623-629.
- Erlandsen, S.L., Bemrick, W.J., Wells, C.L., Feely, D.E., Knudson, L., Campbell, S.R., van Keulen, H. y Jarroll, E.L. 1990. Axenic culture and characterization of *Giardia ardeae* from the great blue heron (*Ardea herodias*). *Journal of Parasitology*, **76**: 717-724.
- Fantham, H. y Porter, A. 1916. The pathogenicity of *Giardia* (*Lambli*a) *intestinalis* to men and to experimental animals. *British Medical Journal*, **2**: 139-141.

- Fayer, R. 2004. *Cryptosporidium*: a water-borne zoonotic parasite. *Veterinary Parasitology*, **126**: 37-56.
- Fayer, R. y Xiao, L. 2007. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis, CRC Press, Boca Raton, Florida, 576 pp.
- Fayer, R. y Santín, M. 2009. *Cryptosporidium xiaoi* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in sheep (*Ovis aries*). *Veterinary Parasitology*, **164**: 192-200.
- Fayer, R., Morgan, U. y Upton, S.J. 2000a. Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission, detection and identification. *International Journal for Parasitology*, **30**: 1305-1322.
- Fayer, R., Trout, J.M., Walsh, E. y Cole, R. 2000b. Rotifers ingest oocysts of *Cryptosporidium parvum*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, **47**: 161-163.
- Fayer, R., Trout, J., Xiao, L., Morgan, U., Lal, A. y Dubey, J. 2001. *Cryptosporidium canis* n. sp. from domestic dogs. *Journal of Parasitology*, **87**: 1415-1422.
- Fayer, R., Dubey, J.P. y Lindsay, D.S. 2004. Zoonotic protozoa: from land to sea. *Trends in Parasitology*, **20**: 531-536.
- Fayer, R., Santín, M. y Xiao, L. 2005. *Cryptosporidium bovis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). *Journal of Parasitology*, **91**: 624-629.
- Fayer, R., Santín, M. y Trout, J.M. 2008. *Cryptosporidium ryanae* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). *Veterinary Parasitology*, **156**: 191-198.
- Fayer, R., Santín, M. y Macarisin, D. 2010. *Cryptosporidium ubiquitum* n. sp. in animals and humans. *Veterinary Parasitology*, **172**: 23-32.
- Feng, Y. 2010. *Cryptosporidium* in wild placental mammals. *Experimental Parasitology*, **124**: 128-137.
- Feng, Y. y Xiao, L. 2011. Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. *Clinical Microbiology Reviews*, **24**: 110-140.
- Feng, Y., Alderisio, K.A., Yang, W., Blancero, L.A., Kuhne, W.G., Ndareski, C.A., Reid, M. y Xiao, L. 2007. *Cryptosporidium* genotypes in wildlife from a New York watershed. *Applied and Environmental Microbiology*, **73**: 6475-6483.

- Fernández-Álvarez, Á., Martín-Alonso, A., Abreu-Acosta, N., Feliu, C., Hugot, J.-P., Valladares, B. y Foronda, P. 2014. Identification of a novel assemblage G subgenotype and a zoonotic assemblage B in rodent isolates of *Giardia duodenalis* in the Canary Islands, Spain. *Parasitology*, **141**: 206-215.
- Fetene, T., Worku, N., Huruy, K. y Kebede, N. 2011. *Cryptosporidium* recovered from *Musca domestica*, *Musca sorbens* and mango juice accessed by synanthropic flies in Bahirdar, Ethiopia. *Zoonoses and Public Health*, **58**: 69-75.
- Figueiras, F.G., Labarta, U. y Fernández Reiriz, M.J. 2002. Coastal upwelling, primary production and mussel growth in the Rías Baixas of Galicia. *Hydrobiologia*, **84**: 121-131.
- Filice, F.P. 1952. Studies on the cytology and life history of a *Giardia* from the laboratory rat. *University of California Publications in Zoology*, **57**: 53-146.
- Fleishman, E., Thomson, J.R., Mac Nally, R., Murphy, D.D. y Fay, J.P. 2005. Using indicator species to predict species richness of multiple taxonomic groups. *Conservation Biology*, **19**: 1125-1137.
- Fraga, F. 1981. Upwelling off the Galician Coast, Northwest Spain. En: *Coastal Upwelling*. Richards, F.A. (Ed.). American Geophysical Union, Washington DC, pp. 176-182.
- Friend, D.S. 1966. The fine structure of *Giardia muris*. *Journal of Cell Biology*, **29**: 317-332.
- Gajadhar, A.A. y Allen, J.R. 2004. Factors contributing to the public health and economic importance of waterborne zoonotic parasites. *Veterinary Parasitology*, **126**: 3-14.
- Galán, P. 1999. Conservación de la herpetofauna gallega. Situación actual de los anfibios y reptiles de Galicia. Servicio de Publicacións da Universidade da Coruña, A Coruña, 286 pp.
- Galán, P. 2002. Galicia. En: *Atlas y Libro Rojo de los Anfibios y Reptiles de España*. Pleguezuelos, J.M., Márquez, R. y Lizana, M. (Eds.). Dirección General de Conservación de la Naturaleza-Asociación Herpetológica Española, Madrid, pp. 467-468.
- Galán, P. 2005. Herpetofauna de Galicia: situación actual y amenazas que inciden en su conservación. *Recursos Rurais*, **2**: 51-64.

- García-Preledo, I., Pedraza-Díaz, S., González-Warleta, M., Mezo, M., Gómez-Bautista, M., Ortega-Mora, L.M. y Castro-Hermida, J.A. 2013a. Presence of *Cryptosporidium scrofarum*, *C. suis* and *C. parvum* subtypes IIA16G2R1 and IIA13G1R1 in Eurasian wild boars (*Sus scrofa*). *Veterinary Parasitology*, **196**: 497-502.
- García-Preledo, I., Pedraza-Díaz, S., González-Warleta, M., Mezo, M., Gómez-Bautista, M., Ortega-Mora, L.M. y Castro-Hermida, J.A. 2013b. The first report of *Cryptosporidium bovis*, *C. ryanae* and *Giardia duodenalis* sub-assemblage A-II in roe deer (*Capreolus capreolus*) in Spain. *Veterinary Parasitology*, **197**: 658-664.
- García Verde, M.J. 2010. Endoparasitismos con potencial zoonótico en perros acogidos en la Fundación Refuxio de Animais. Tesis de Licenciatura. Universidad de Santiago de Compostela, 80 pp.
- Gaydos, J.K., Miller, W.A., Johnson, C., Zornetzer, H., Melli, A., Packham, A., Jeffries, S.J., Lance, M.M. y Conrad, P.A. 2008. Novel and canine genotypes of *Giardia duodenalis* in harbor seals (*Phoca vitulina richardsi*). *Journal of Parasitology*, **94**: 1264-1268.
- Geurden, T., Goma, F.Y., Siwila, J., Phiri, I.G.K., Mwanza, A.M., Gabriel, S., Claerebout, E. y Vercruyse, J. 2006. Prevalence and genotyping of *Cryptosporidium* in three cattle husbandry systems in Zambia. *Veterinary Parasitology*, **138**: 217-222.
- Ghoneim, N.H., Abdel-Moein, K.A. y Saeed, H. 2012. Fish as a possible reservoir for zoonotic *Giardia duodenalis* assemblages. *Parasitology Research*, **110**: 2193-2196.
- Gibbs, E.P.J. 2014. The evolution of One Health: a decade of progress and challenges for the future. *Veterinary Record*, **174**: 85-91.
- Gomes, R.S., Huber, F., da Silva, S. y do Bomfim, T.C.B. 2012. *Cryptosporidium* spp. parasitize exotic birds that are commercialized in markets, commercial aviaries, and pet shops. *Parasitology Research*, **110**: 1363-1370.
- Gómez, M.S., Torres, J., Gracenea, M., Fernández-Morán, J. y González-Moreno, O. 2000. Further report on *Cryptosporidium* in Barcelona zoo mammals. *Parasitology Research*, **86**: 318-323.
- Gómez Couso, H. 2005. *Cryptosporidium* en moluscos bivalvos. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela, 214 pp.

- Gómez-Couso, H. y Ares-Mazás, E. 2012. *Giardia duodenalis*: contamination of bivalve molluscs. En: *Foodborne Protozoan Parasites*. Robertson, L.J. y Smith, H.W. (Eds.). Nova Science Publishers, Inc., Nueva York, pp. 133-150.
- Gómez-Couso, H., Freire-Santos, F., Amar, C.F., Grant, K.A., Williamson, K., Ares-Mazás, M.E. y McLauchlin, J. 2004. Detection of *Cryptosporidium* and *Giardia* in molluscan shellfish by multiplexed nested-PCR. *International Journal of Food Microbiology*, **91**: 279-288.
- Gómez-Couso, H., Méndez-Hermida, F., Castro-Hermida, J.A. y Ares-Mazás, E. 2005a. *Giardia* in shellfish-farming areas: detection in mussels, river water and waste waters. *Veterinary Parasitology*, **133**: 13-18.
- Gómez-Couso, H., Méndez-Hermida, F., Castro-Hermida, J.A. y Ares-Mazás, E. 2005b. Occurrence of *Giardia* cysts in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) destined for human consumption. *Journal of Food Protection*, **68**: 1702-1705.
- Gómez-Couso, H., Méndez-Hermida, F. y Ares-Mazás, E. 2006a. Levels of detection of *Cryptosporidium* oocysts in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) by IFA and PCR methods. *Veterinary Parasitology*, **141**: 60-65.
- Gómez-Couso, H., Méndez-Hermida, F., Castro-Hermida, J.A. y Ares-Mazás, E. 2006b. *Cryptosporidium* contamination in harvesting areas of bivalve molluscs. *Journal of Food Protection*, **69**: 185-190.
- Gómez-Couso, H., Méndez-Hermida, F. y Ares-Mazás, E. 2007. First report of *Cryptosporidium parvum* 'ferret' genotype in American mink (*Mustela vison* Shreber 1777). *Parasitology Research*, **100**: 877-879.
- González González, M.A. y Cobo Gradín, F. 2005. Macroinvertebrados dos ríos galegos: biodiversidade e valor de conservación. *ADEGA Cadernos*, **14**: 31-36.
- González González, M.A. y Cobo Gradín, F. 2006. Macroinvertebrados de las aguas dulces de Galicia. Hércules de Ediciones, A Coruña, 175 pp.
- Gortazar, C., Reperant, L.A., Kuiken, T., de la Fuente, J., Boadella, M., Martínez-López, B., Ruiz-Fons, F., Estrada-Peña, A., Drosten, C., Medley, G., Ostfeld, R., Peterson, T., VerCauteren, K.C., Menge, C., Artois, M., Schultsz, C., Delahay, R., Serra-Cobo, J., Poulin, R., Keck, F., Aguirre, A.A., Henttonen, H., Dobson, A.P., Kutz, S., Lubroth,

- J. y Mysterud, A. 2014.** Crossing the interspecies barrier: opening the door to zoonotic pathogens. *PLoS Pathogens*, **10**: e1004129.
- Gracenea, M., Gómez, M.S., Torres, J., Carné, E. y Fernández-Morán, J. 2002.** Transmission dynamics of *Cryptosporidium* in primates and herbivores at the Barcelona zoo: a long-term study. *Veterinary Parasitology*, **104**: 19-26.
- Gracenea, M., Gómez, M.S. y Ramírez, C.M. 2011.** Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in water from irrigation channels in Catalonia (NE Spain). *Revista Ibero-Latinoamericana de Parasitología*, **70**: 172-177.
- Graczyk, T. 2007.** Fish, amphibians, and reptiles. En: *Cryptosporidium and cryptosporidiosis*. Fayer, R. y Xiao, L. (Eds.). CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 387-394.
- Graczyk, T.K., DaSilva, A.J., Cranfield, M.R., Nizeyi, J.B., Kalema, G.R. y Pieniazek, N.J. 2001.** *Cryptosporidium parvum* genotype 2 infections in free-ranging mountain gorillas (*Gorilla gorilla beringei*) of the Bwindi Impenetrable National Park, Uganda. *Parasitology Research*, **87**: 368-370.
- Graczyk, T.K., Bosco-Nizeyi, J., Ssebide, B., Thompson, R.C., Read, C. y Cranfield, M.R. 2002.** Anthroponotic *Giardia duodenalis* genotype (assemblage) A infections in habitats of free-ranging human-habituated gorillas, Uganda. *Journal of Parasitology*, **88**: 905-909.
- Graczyk, T., Grimes, B., Knight, R., Szostakowska, B., Kruminis-Lozowska, W., Racewicz, M., Tamang, L., DaSilva, A. y Myjak, P. 2003.** Mechanical transmission of *Cryptosporidium parvum* oocysts by flies. *Wiadomosci Parazytologiczne*, **50**: 243-247.
- Graczyk, T.K., Majewska, A.C. y Schwab, K.J. 2008.** The role of birds in dissemination of human waterborne enteropathogens. *Trends in Parasitology*, **24**: 55-59.
- Gregory, R. 2006.** Birds as biodiversity indicators for Europe. *Significance*, **3**: 106-110.
- Gregory, R. y Strien, A.v. 2010.** Wild bird indicators: using composite population trends of birds as measures of environmental health. *Ornithological Science*, **9**: 3-22.
- Grupo de Estudio de los Animales Salvajes (GEAS). 2015.** Análise da situação de conservação dos mamíferos galegos. *Cerna*, **73**: 30-32.

- Guerra, A. 1992.** Mollusca, Cephalopoda. En: *Fauna Ibérica*. Ramos, M.A. (Ed.). Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC), Madrid, pp. 1-327
- Hamnes, I.S., Gjerde, B.K., Forberg, T. y Robertson, L.J. 2007.** Occurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in Norwegian red foxes (*Vulpes vulpes*). *Veterinary Parasitology*, **143**: 347-353.
- Helmi, K., Skraber, S., Burnet, J.B., Leblanc, L., Hoffmann, L. y Cauchie, H.M. 2011.** Two-year monitoring of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* occurrence in a recreational and drinking water reservoir using standard microscopic and molecular biology techniques. *Environmental Monitoring and Assessment*, **179**: 163-175.
- Hijjawi, N.S., Meloni, B.P., Ryan, U.M., Olson, M.E. y Thompson, R.C. 2002.** Successful *in vitro* cultivation of *Cryptosporidium andersoni*: evidence for the existence of novel extracellular stages in the life cycle and implications for the classification of *Cryptosporidium*. *International Journal for Parasitology*, **32**: 1719-1726.
- Hill, B.D., Fraser, I.R. y Prior, H.C. 1997.** *Cryptosporidium* infection in a dugong (*Dugong dugon*). *Australian Veterinary Journal*, **75**: 670-671.
- Hill, D.H. y Nash, T. 2011.** Intestinal flagellate and ciliate infections. En: *Tropical Infectious Diseases. Principles, Pathogens and Practice*. Guerrant, R., Krogstad, D., Maquire, J., Walker, J. y Weller, P. (Eds.). Churchill Livingstone, Filadelfia, Pensilvania, pp. 623-632.
- Holubová, N., Sak, B., Horčíčková, M., Hlášková, L., Květoňová, D., Menchaca, S., McEvoy, J. y Kváč, M. 2016.** *Cryptosporidium avium* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in birds. *Parasitology Research*, **115**: 2243-2251.
- Hughes-Hanks, J.M., Rickard, L.G., Panuska, C., Saucier, J.R., O'Hara, T.M., Dehn, L. y Rolland, R.M. 2005.** Prevalence of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in five marine mammal species. *Journal of Parasitology*, **91**: 1225-1228.
- Hunter, P.R. y Nichols, G. 2002.** Epidemiology and clinical features of *Cryptosporidium* infection in immunocompromised patients. *Clinical Microbiology Reviews*, **15**: 145-154.
- Hunter, P.R. y Thompson, R.C.A. 2005.** The zoonotic transmission of *Giardia* and *Cryptosporidium*. *International Journal for Parasitology*, **35**: 1181-1190.



- Inman, L. y Takeuchi, A. 1979. Spontaneous cryptosporidiosis in an adult female rabbit. *Veterinary Pathology*, **16**: 89-95.
- Iseki, M. 1979. *Cryptosporidium felis* sp. n. (Protozoa: Eimeriorina) from the domestic cat. *Japanese Journal of Parasitology*, **28**: 285-307.
- Jagai, J.S., Griffiths, J.K., Kirshen, P.H., Webb, P. y Naumova, E.N. 2010. Patterns of protozoan infections: spatiotemporal associations with cattle density. *EcoHealth*, **7**: 33-46.
- Jirku, M., Valigurová, A., Koudela, B., Krížek, J., Modrý, D. y Slapeta, J. 2008. New species of *Cryptosporidium* Tyzzer, 1907 (Apicomplexa) from amphibian host: morphology, biology and phylogeny. *Folia Parasitologica*, **55**: 81-94.
- Jones, K.E., Patel, N.G., Levy, M.A., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J.L. y Daszak, P. 2008. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, **451**: 990-993.
- Karanis, P., Plutzer, J., Halim, N.A., Igori, K., Nagasawa, H., Ongerth, J. y Liqing, M. 2007. Molecular characterization of *Cryptosporidium* from animal sources in Qinghai province of China. *Parasitology Research*, **101**: 1575-1580.
- King, B.J. y Monis, P.T. 2007. Critical processes affecting *Cryptosporidium* oocyst survival in the environment. *Parasitology*, **134**: 309-323.
- Kleinertz, S., Hermosilla, C., Ziltener, A., Kreicker, S., Hirzmann, J., Abdel-Ghaffar, F. y Taubert, A. 2014. Gastrointestinal parasites of free-living Indo-Pacific bottlenose dolphins (*Tursiops aduncus*) in the Northern Red Sea, Egypt. *Parasitology Research*, **113**: 1405-1415.
- Kofoed, C.A. y Christiansen, E.B. 1915. On *Giardia microti* sp. nov., from the meadow mouse. *University of California Publications in Zoology*, **16**: 23-29.
- Koinari, M., Karl, S., Ng-Hublin, J., Lymbery, A.J. y Ryan, U.M. 2013. Identification of novel and zoonotic *Cryptosporidium* species in fish from Papua New Guinea. *Veterinary Parasitology*, **198**: 1-9.
- Kotková, M., Němejč, K., Sak, B., Hanzal, V., Květoňová, D., Hlásková, L., Čondlová, Š., McEvoy, J. y Kváč, M. 2016. *Cryptosporidium ubiquitum*, *C. muris* and *Cryptosporidium* deer genotype in wild cervids and caprines in the Czech Republic. *Folia Parasitologica*, **63**: 003.



- Kotloff, K.L., Nataro, J.P., Blackwelder, W.C., Nasrin, D., Farag, T.H., Panchalingam, S., Wu, Y., Sow, S.O., Sur, D., Breiman, R.F., Faruque, A.S.G., Zaidi, A.K.M., Saha, D., Alonso, P.L., Tamboura, B., Sanogo, D., Onwuchekwa, U., Manna, B., Ramamurthy, T., Kanungo, S., Ochieng, J.B., Omore, R., Oundo, J.O., Hossain, A., Das, S.K., Ahmed, S., Qureshi, S., Quadri, F., Adegbola, R.A., Antonio, M., Hossain, M.J., Akinsola, A., Mandomando, I., Nhampossa, T., Acácio, S., Biswas, K., O'Reilly, C.E., Mintz, E.D., Berkeley, L.Y., Muhsen, K., Sommerfelt, H., Robins-Browne, R.M. y Levine, M.M. 2013. Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): a prospective, case-control study. *Lancet*, **382**: 209-222.
- Krauss, J., Bommarco, R., Guardiola, M., Heikkinen, R.K., Helm, A., Kuussaari, M., Lindborg, R., Öckinger, E., Pärtel, M., Pino, J., Pöyry, J., Raatikainen, K.M., Sang, A., Stefanescu, C., Teder, T., Zobel, M. y Steffan-Dewenter, I. 2010. Habitat fragmentation causes immediate and time-delayed biodiversity loss at different trophic levels. *Ecology Letters*, **13**: 597-605.
- Krawczyk, A.I., van Leeuwen, A.D., Jacobs-Reitsma, W., Wijnands, L.M., Bouw, E., Jahfari, S., van Hoek, A.H.A.M., van der Giessen, J.W.B., Roelfsema, J.H., Kroes, M., Kleve, J., Dullemont, Y., Sprong, H. y de Bruin, A. 2015. Presence of zoonotic agents in engorged ticks and hedgehog faeces from *Erinaceus europaeus* in (sub) urban areas. *Parasites and Vectors*, **8**: 1-6.
- Kuhn, R.C., Rock, C.M. y Oshima, K.H. 2002. Occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in wild ducks along the Rio Grande River valley in southern New Mexico. *Applied and Environmental Microbiology*, **68**: 161-165.
- Kunstler, J. 1882. Sur cinq protozoaires parasites nouveaux. *Comptes Rendus des Séances et Mémoires de la Société de Biologie*, **95**: 347-349.
- Kutz, S., Thompson, R. y Polley, L. 2009. Wildlife with *Giardia*: villain or victim and vector. En: *Giardia and Cryptosporidium: from molecules to disease*. Ortega-Pierres, G., Cacciò, S.M., Fayer, R., Mank, T.G., Smith, H.V. y Thompson, R.C.A. (Eds.). Oxford University Press, Oxford, pp. 94-106.
- Kváč, M., Kestřánová, M., Pinková, M., Květoňová, D., Kalinová, J., Wagnerová, P., Kotková, M., Vítovec, J., Ditrich, O., McEvoy, J., Stenger, B. y Sak, B. 2013. *Cryptosporidium*

- scrofarum* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in domestic pigs (*Sus scrofa*). *Veterinary Parasitology*, **191**: 218-227.
- Kváč, M., Hofmannová, L., Hlášková, L., Květoňová, D., Vítovec, J., McEvoy, J. y Sak, B. 2014a.** *Cryptosporidium erinacei* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in hedgehogs. *Veterinary Parasitology*, **201**: 9-17.
- Kváč, M., McEvoy, J., Stenger, B. y Clark, M. 2014b.** Cryptosporidiosis in other vertebrates. En: *Cryptosporidium: parasite and disease*. Cacciò, S.M. y Widmer, G. (Eds.). Springer, Viena, pp. 237-323.
- Kváč, M., Havrdová, N., Hlášková, L., Daňková, T., Kanděra, J., Ježková, J., Vítovec, J., Sak, B., Ortega, Y., Xiao, L., Modrý, D., Chelladurai, J.R., Prantlová, V. y McEvoy, J. 2016.** *Cryptosporidium proliferans* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae): molecular and biological evidence of cryptic species within gastric *Cryptosporidium* of mammals. *PLoS ONE*, **11**: e0147090.
- Laatamna, A.E., Wagnerova, P., Sak, B., Kvetonova, D., Aissi, M., Rost, M. y Kváč, M. 2013.** Equine cryptosporidial infection associated with *Cryptosporidium* hedgehog genotype in Algeria. *Veterinary Parasitology*, **197**: 350-353.
- Lafferty, K.D. 2009.** The ecology of climate change and infectious diseases. *Ecology*, **90**: 888-900.
- Lal, A., Baker, M.G., Hales, S. y French, N.P. 2013.** Potential effects of global environmental changes on cryptosporidiosis and giardiasis transmission. *Trends in Parasitology*, **29**: 83-90.
- Lalle, M., Frangipane di Regalbono, A., Poppi, L., Nobili, G., Tonanzi, D., Pozio, E. y Cacciò, S.M. 2007.** A novel *Giardia duodenalis* assemblage A subtype in fallow deer. *Journal of Parasitology*, **93**: 426-428.
- Lallo, M.A., Pereira, A., Araújo, R., Favorito, S.E., Bertolla, P. y Bondan, E.F. 2009.** Occurrence of *Giardia*, *Cryptosporidium* and microsporidia in wild animals from a deforestation area in the state of São Paulo, Brazil. *Ciencia Rural*, **39**: 1465-1470.
- Lambl, W. 1859.** Mikroskopische untersuchungen der darm-excrete: beitrage zur pathologie des darms und zur diagnostik am krankenbette. *Vierteljahrsschrift für die Praktische Heilkunde. Herausgegeben von der Medicinischen Facultät in Prag*, **61**: 1-58.

- Langkjaer, R.B., Vigre, H., Enemark, H.L. y Maddox-Hyttel, C. 2007. Molecular and phylogenetic characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* from pigs and cattle in Denmark. *Parasitology*, **134**: 339-350.
- Larsen, F.W., Turner, W.R. y Brooks, T.M. 2012. Conserving critical sites for biodiversity provides disproportionate benefits to people. *PLoS ONE*, **7**: e36971.
- Lasek-Nesselquist, E., Bogomolni, A.L., Gast, R.J., Welch, D.M., Ellis, J.C., Sogin, M.L. y Moore, M.J. 2008. Molecular characterization of *Giardia intestinalis* haplotypes in marine animals: variation and zoonotic potential. *Diseases of Aquatic Organisms*, **81**: 39-51.
- Lasek-Nesselquist, E., Welch, D.M. y Sogin, M.L. 2010. The identification of a new *Giardia duodenalis* assemblage in marine vertebrates and a preliminary analysis of *G. duodenalis* population biology in marine systems. *International Journal for Parasitology*, **40**: 1063-1074.
- Lebbad, M., Mattsson, J.G., Christensson, B., Ljungström, B., Backhans, A., Andersson, J.O. y Svärd, S.G. 2010. From mouse to moose: multilocus genotyping of *Giardia* isolates from various animal species. *Veterinary Parasitology*, **168**: 231-239.
- Levecke, B., Dorny, P., Geurden, T., Vercammen, F. y Vercruysse, J. 2007. Gastrointestinal protozoa in non-human primates of four zoological gardens in Belgium. *Veterinary Parasitology*, **148**: 236-246.
- Levine, N.D. 1980. Some corrections of coccidian (Apicomplexa: Protozoa) nomenclature. *Journal of Parasitology*, **66**: 830-834.
- Li, X., Pereira, M.d., Larsen, R., Xiao, C., Phillips, R., Striby, K., McCowan, B. y Atwill, E.R. 2015. *Cryptosporidium rubeyi* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in multiple *Spermophilus* ground squirrel species. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, **4**: 343-350.
- Lindsay, D.S., Upton, S.J., Owens, D.S., Morgan, U.M., Mead, J.R. y Blagburn, B.L. 2000. *Cryptosporidium andersoni* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from cattle, *Bos taurus*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, **47**: 91-95.
- López-Davalillo Larrea, J. 2014. Galicia. En: *Geografía regional de España*. López-Davalillo Larrea, J. (Ed.). Universidad Nacional de Educación a Distancia, Madrid, pp. 83-112.
- López, A. 2011. Cetáceos: guía de identificación. CEMMA, Vigo, 56 pp.

- López, A., Santos, M.B., Pierce, G.J., González, A.F., Valeiras, X. y Guerra, Á. 2002. Trends in strandings and by-catch of marine mammals in north-west Spain during the 1990s. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **82**: 513-521.
- López, A., Pierce, G.J., Santos, M.B., Gracia, J. y Guerra, A. 2003. Fishery by-catches of marine mammals in Galician waters: results from on-board observations and an interview survey of fishermen. *Biological Conservation*, **111**: 25-40.
- López, A., Pierce, G.J., Valeiras, X., Santos, M.B. y Guerra, Á. 2004. Distribution patterns of small cetaceans in Galician waters. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **84**: 283-294.
- Mac Kenzie, W., Hoxie, N., Proctor, M., Gradus, M., Blair, K., Peterson, D., Kazmierczak, J., Addis, D., Fox, K. y Rose, J. 1994. Massive waterborne outbreak of *Cryptosporidium* infection associated with a filtered public water supply. *New England Journal of Medicine*, **331**: 161-167.
- Majewska, A.C., Graczyk, T.K., Słodkiewicz-Kowalsk, A., Tamang, L., Jedrzejewski, S., Zduniak, P., Solarczyk, P., Nowosad, A. y Nowosad, P. 2009. The role of free-ranging, captive, and domestic birds of Western Poland in environmental contamination with *Cryptosporidium parvum* oocysts and *Giardia lamblia* cysts. *Parasitology Research*, **104**: 1093-1099.
- Martínez-Díaz, R.A., Sansano-Maestre, J., Martínez-Herrero, M.C., Ponce-Gordo, F. y Gómez-Muñoz, M.T. 2011. Occurrence and genetic characterization of *Giardia duodenalis* from captive nonhuman primates by multi-locus sequence analysis. *Parasitology Research*, **109**: 539-544.
- Martins, M. y Del Claro, K. 1996. Defensive tactics in lizards and snakes: the potential contribution of the neotropical fauna. *Anais de Etologia*, **14**: 185-199.
- Matsubayashi, M., Takami, K., Kimata, I., Nakanishi, T., Tani, H., Sasai, K. y Baba, E. 2005. Survey of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. infections in various animals at a zoo in Japan. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, **36**: 331-335.
- McCarthy, S., Ng, J., Gordon, C., Miller, R., Wyber, A. y Ryan, U.M. 2008. Prevalence of *Cryptosporidium* and *Giardia* species in animals in irrigation catchments in the southwest of Australia. *Experimental Parasitology*, **118**: 596-599.

- Meisel, J.L., Perera, D.R., Meligro, C. y Rubin, C.E. 1976. Overwhelming watery diarrhea associated with a *Cryptosporidium* in an immunosuppressed patient. *Gastroenterology*, **70**: 1156-1160.
- Melero, Y. y Palazón, S. 2011. Visón americano - *Neovison vison*. En: *Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles*. Salvador, A. y Cassinello, J. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. Disponible en: <http://www.vertebradosibericos.org>, último acceso 15 de septiembre de 2016.
- Méndez-Fernández, P., Bustamante, P., Bode, A., Chouvelon, T., Ferreira, M., López, A., Pierce, G.J., Santos, M.B., Spitz, J., Vingada, J.V. y Caurant, F. 2012. Foraging ecology of five toothed whale species in the Northwest Iberian Peninsula, inferred using carbon and nitrogen isotope ratios. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **413**: 150-158.
- Méndez-Hermida, F., Gómez-Couso, H. y Ares-Mazás, E. 2006. *Artemia* is capable of spreading oocysts of *Cryptosporidium* and the cysts of *Giardia*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, **53**: 432-434.
- Méndez-Hermida, F., Gómez-Couso, H., Romero-Suances, R. y Ares-Mazás, E. 2007. *Cryptosporidium* and *Giardia* in wild otters (*Lutra lutra*). *Veterinary Parasitology*, **144**: 153-156.
- Messenger, A.M., Barnes, A.N. y Gray, G.C. 2014. Reverse zoonotic disease transmission (zooanthroponosis): a systematic review of seldom-documented human biological threats to animals. *PLoS ONE*, **9**: e89055.
- Miller, R. 1926. Lamblasis as a cause of chronic enteritis in children. *Archives of Disease in Childhood*, **1**: 93-98.
- Mirzaei, M. 2012. Epidemiological survey of *Cryptosporidium* spp. in companion and stray dogs in Kerman, Iran. *Veterinaria Italiana*, **48**: 291-296.
- Molina-López, R.A., Ramis, A., Martín-Vázquez, S., Gómez-Couso, H., Ares-Mazás, E., Cacciò, S.M., Leiva, M. y Darwich, L. 2010. *Cryptosporidium baileyi* infection associated with an outbreak of ocular and respiratory disease in otus owls (*Otus scops*) in a rehabilitation centre. *Avian Pathology*, **39**: 171-176.

- Morgan, U.M., Xiao, L., Hill, B.D., O'Donoghue, P., Limor, J., Lal, A. y Thompson, R.C. 2000.** Detection of the *Cryptosporidium parvum* "human" genotype in a dugong (*Dugong dugon*). *Journal of Parasitology*, **86**: 1352-1354.
- Morgan-Ryan, U.M., Fall, A., Ward, L.A., Hijjawi, N., Sulaiman, I., Fayer, R., Thompson, R.A., Olson, M., Lal, A. y Xiao, L. 2002.** *Cryptosporidium hominis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from *Homo sapiens*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, **49**: 433-440.
- Nakamura, A.A. y Meireles, M.V. 2015.** *Cryptosporidium* infections in birds - a review. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, **24**: 253-267.
- Nakamura, A.A., Simões, D.C., Antunes, R.G., da Silva, D.C. y Meireles, M.V. 2009.** Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. from fecal samples of birds kept in captivity in Brazil. *Veterinary Parasitology*, **166**: 47-51.
- Navarro-i-Martínez, L., del Águila, C. y Bornay-Llinares, F.J. 2011.** *Cryptosporidium*: un género en revisión. Situación en España. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, **29**: 135-143.
- Neira, O., Muñoz, S., Stanley, V., Gosh, C. y Rosales, L.M. 2010.** *Cryptosporidium parvum* in wild gastropods as bioindicators of fecal contamination in terrestrial ecosystems. *Revista Chilena de Infectología*, **27**: 211-218.
- Ng, J., Pavlasek, I. y Ryan, U. 2006.** Identification of novel *Cryptosporidium* genotypes from avian hosts. *Applied and Environmental Microbiology*, **72**: 7548-7553.
- Nichols, G. 2007.** Epidemiology. En: *Cryptosporidium and cryptosporidiosis*. Fayer, R. y Xiao, L. (Eds.). CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 79-118.
- Nime, F., Burek, J., Page, O., Hoelscher, M. y Yarley, J. 1976.** Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. *Gastroenterology*, **70**: 592-598.
- Nolan, M.J., Jex, A.R., Haydon, S.R., Stevens, M.A. y Gasser, R.B. 2010.** Molecular detection of *Cryptosporidium cuniculus* in rabbits in Australia. *Infection, Genetics and Evolution*, **10**: 1179-1187.
- Noller, W. 1920.** Kleine beobachtungen an parasitischen protozoen. *Archiv der Protistenkunde*, **41**: 169-189.

- Nowosad, P., Kuczyńska-Kippen, N., Słodkiewicz-Kowalska, A., Majewska, A. y Graczyk, T. 2007. The use of rotifers in detecting protozoan parasite infections in recreational lakes. *Aquatic Ecology*, **41**: 47-54.
- Nygård, K., Schimmer, B., Søbstad, Ø., Walde, A., Tveit, I., Langeland, N., Hausken, T. y Aavitsland, P. 2006. A large community outbreak of waterborne giardiasis-delayed detection in a non-endemic urban area. *BMC Public Health*, **6**: 141.
- O'Handley, R.M. y Olson, M.E. 2006. Giardiasis and cryptosporidiosis in ruminants. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, **22**: 623-643.
- Oates, S.C., Miller, M.A., Hardin, D., Conrad, P.A., Melli, A., Jessup, D.A., Dominik, C., Roug, A., Tinker, M.T. y Miller, W.A. 2012. Prevalence, environmental loading, and molecular characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* isolates from domestic and wild animals along the Central California Coast. *Applied and Environmental Microbiology*, **78**: 8762-8772.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), Organización Mundial para la Salud (OMS), Coordinación del Sistema de las Naciones Unidas para la Gripe (UNSIC), Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF) y Banco Mundial. 2008. Contributing to One World, One Health: a strategic framework for reducing risks of infectious diseases at the animal-human-ecosystems interface. FAO/OIE/OMS/UNSIC/UNICEF y Banco Mundial, Roma, 68 pp. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/011/aj137e/aj137e00.pdf>, último acceso 15 de septiembre de 2016.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 1995. Enfermedades infecciosas nuevas, emergentes y reemergentes. *Informe presentado al Comité Regional OPS/AMRO*, **DC38/17**: 20.
- Pagès-Manté, A., Pagès-Bosch, M., Majó-Masferrer, N., Gómez-Couso, H. y Ares-Mazás, E. 2007. An outbreak of disease associated with cryptosporidia on a red-legged partridge (*Alectoris rufa*) game farm. *Avian Pathology*, **36**: 275-278.
- Pallant, L., Barutzki, D., Schaper, R. y Thompson, R.A. 2015. The epidemiology of infections with *Giardia* species and genotypes in well cared for dogs and cats in Germany. *Parasites and Vectors*, **8**: 1-14.



- Palos-Ladeiro, M., Bigot, A., Aubert, D., Hohweyer, J., Favennec, L., Villena, I. y Geffard, A. 2013. Protozoa interaction with aquatic invertebrate: interest for watercourses biomonitoring. *Environmental Science and Pollution Research*, **20**: 778-789.
- Panciera, R., Thomassen, R. y Garner, F. 1971. Cryptosporidial infection in a calf. *Veterinary Pathology*, **8**: 479-484.
- Pantchev, N., Broglia, A., Paoletti, B., Vrhovec, M.G., Bertram, A., Nöckler, K. y Cacciò, S.M. 2014. Occurrence and molecular typing of *Giardia* isolates in pet rabbits, chinchillas, guinea pigs and ferrets collected in Europe during 2006-2012. *Veterinary Record*, **175**: 18.
- Papazahariadou, M., Diakou, A., Papadopoulos, E., Georgopoulou, I., Komnenou, A. y Antoniadou-Sotiriadou, K. 2008. Parasites of the digestive tract in free-ranging birds in Greece. *Journal of Natural History*, **42**: 381-398.
- Parsons, M.B., Gillespie, T.R., Lonsdorf, E.V., Travis, D., Lipende, I., Gilagiza, B., Kamenya, S., Pintea, L. y Vázquez-Prokopec, G.M. 2014. Global positioning system data-loggers: a tool to quantify fine-scale movement of domestic animals to evaluate potential for zoonotic transmission to an endangered wildlife population. *PLoS ONE*, **9**: e110984.
- Pasmans, F., Blahak, S., Martel, A. y Pantchev, N. 2008. Introducing reptiles into a captive collection: the role of the veterinarian. *Veterinary Journal*, **175**: 53-68.
- Patz, J.A., Graczyk, T.K., Geller, N. y Vittor, A.Y. 2000. Effects of environmental change on emerging parasitic diseases. *International Journal for Parasitology*, **30**: 1395-1405.
- Pavlásek, I. 1999. Cryptosporidia: biology, diagnosis, host spectrum, specificity, and the environment. *Remedia Klinicka Mikrobiologie*, **3**: 290-301.
- Pavlásek, I., Láviczková, M., Horák, P., Král, J. y Král, B. 1995. *Cryptosporidium varanii* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in Emerald monitor (*Varanus prasinus* Schlegel, 1893) in captivity in Prague zoo. *Gazella*, **22**: 99-108.
- Paziewska, A., Bednarska, M., Nieweglowski, H., Karbowiak, G. y Bajer, A. 2007. Distribution of *Cryptosporidium* and *Giardia* spp. in selected species of protected and game mammals from North-Eastern Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, **14**: 265-270.



- Pedraza-Díaz, S., Amar, C., Iversen, A.M., Stanley, P.J. y McLauchlin, J. 2001.** Unusual *Cryptosporidium* species recovered from human faeces: first description of *Cryptosporidium felis* and *Cryptosporidium* 'dog type' from patients in England. *Journal of Medical Microbiology*, **50**: 293-296.
- Pedraza-Díaz, S., Ortega-Mora, L.M., Carrión, B.A., Navarro, V. y Gómez-Bautista, M. 2009.** Molecular characterisation of *Cryptosporidium* isolates from pet reptiles. *Veterinary Parasitology*, **160**: 204-210.
- Peña, V. y Bárbara, I. 2007.** Los fondos de maërl en Galicia. *Boletín Informativo de la Sociedad Española de Ficología, ALGAS*, **37**: 11-18.
- Penas Patiño, X.M., Pedreira López, C. y Silvar, C. 2004.** Guía das aves de Galicia. Baía Edicións, A Coruña, 464 pp.
- Perec-Matysiak, A., Buńkowska-Gawlik, K., Zaleśny, G. y Hildebrand, J. 2015.** Small rodents as reservoirs of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in south-western Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, **22**: 1-5.
- Pérez Cordon, G., Hitos Prados, A., Romero, D., Sánchez Moreno, M., Pontes, A., Osuna, A. y Rosales, M. 2008.** Intestinal parasitism in the animals of the zoological garden "Peña Escrita" (Almuñecar, Spain). *Veterinary Parasitology*, **156**: 302-309.
- Pérez Iglesias, M.L. y Romaní Barrientos, R.G. 2000.** El clima. En: *Geografía de Galicia*. de Torres Luna, M.d.P. (Ed.). Faro de Vigo, S.A., Vigo, pp. 109-192.
- Petry, F. 2004.** Structural analysis of *Cryptosporidium parvum*. *Microscopy and Microanalysis*, **10**: 586-601.
- Pierce, G.J., Caldas, M., Cedeira, J., Santos, M.B., Llavona, A., Covelo, P., Martínez, G., Torres, J., Sacau, M. y López, A. 2010.** Trends in cetacean sightings along the Galician coast, north-west Spain, 2003-2007, and inferences about cetacean habitat preferences. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **90**: 1547-1560.
- Plutzer, J. y Tomor, B. 2009.** The role of aquatic birds in the environmental dissemination of human pathogenic *Giardia duodenalis* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in Hungary. *Parasitology International*, **58**: 227-231.

- Polley, L.** 2005. Navigating parasite webs and parasite flow: emerging and re-emerging parasitic zoonoses of wildlife origin. *International Journal for Parasitology*, **35**: 1279-1294.
- Polley, L. y Thompson, R.C.A.** 2009. Parasite zoonoses and climate change: molecular tools for tracking shifting boundaries. *Trends in Parasitology*, **25**: 285-291.
- Polley, L. y Thompson, R.C.A.** 2015. Parasites and wildlife in a changing world. *Trends in Parasitology*, **31**: 123-124.
- Polley, L., Hoberg, E. y Kutz, S.** 2010. Climate change, parasites and shifting boundaries. *Acta Veterinaria Scandinavica*, **52**: 147-152.
- Power, M.L. y Ryan, U.M.** 2008. A new species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from eastern grey kangaroos (*Macropus giganteus*). *Journal of Parasitology*, **94**: 1114-1117.
- Presas García, A.** 2005. Galiza, o país dos cen mil ríos. *ADEGA Cadernos*, **15**: 49-59.
- Qi, M., Wang, R., Ning, C., Li, X., Zhang, L., Jian, F., Sun, Y. y Xiao, L.** 2011. *Cryptosporidium* spp. in pet birds: genetic diversity and potential public health significance. *Experimental Parasitology*, **128**: 336-340.
- Quílez, J., Sánchez-Acedo, C., Clavel, A., del Cacho, E. y López-Bernad, F.** 1996. Prevalence of *Cryptosporidium* infections in pigs in Aragon (northeastern Spain). *Veterinary Parasitology*, **67**: 83-88.
- Raś-Noryńska, M. y Sokół, R.** 2015. Internal parasites of reptiles. *Annals of Parasitology*, **61**: 115-117.
- Ravaszova, P., Halanova, M., Goldova, M., Valencakova, A., Malcekova, B., Hurníková, Z. y Halan, M.** 2012. Occurrence of *Cryptosporidium* spp. in red foxes and brown bear in the Slovak Republic. *Parasitology Research*, **110**: 469-471.
- Razzell, P.** 1977. Edward Jenner's cowpox vaccine: the history of a medical myth. Caliban Books, Sussex, 130 pp.
- Reid, A., Lymbery, A., Ng, J., Tweedle, S. y Ryan, U.** 2010. Identification of novel and zoonotic *Cryptosporidium* species in marine fish. *Veterinary Parasitology*, **168**: 190-195.

- Ren, X., Zhao, J., Zhang, L., Ning, C., Jian, F., Wang, R., Lv, C., Wang, Q., Arrowood, M.J. y Xiao, L. 2012. *Cryptosporidium tyzzeri* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in domestic mice (*Mus musculus*). *Experimental Parasitology*, **130**: 274-281.
- Rengifo-Herrera, C., Ortega-Mora, L.M., Gómez-Bautista, M., García-Moreno, F.T., García-Párraga, D., Castro-Urda, J. y Pedraza-Díaz, S. 2011. Detection and characterization of a *Cryptosporidium* isolate from a southern elephant seal (*Mirounga leonina*) from the Antarctic Peninsula. *Applied and Environmental Microbiology*, **77**: 1524-1527.
- Rengifo-Herrera, C., Ortega-Mora, L.M., Gómez-Bautista, M., García-Pena, F.J., García-Párraga, D. y Pedraza-Díaz, S. 2013. Detection of a novel genotype of *Cryptosporidium* in Antarctic pinnipeds. *Veterinary Parasitology*, **191**: 112-128.
- Rinaldi, L., Capasso, M., Mihalca, A.D., Cirillo, R., Cringoli, G. y Cacciò, S. 2012. Prevalence and molecular identification of *Cryptosporidium* isolates from pet lizards and snakes in Italy. *Parasite*, **19**: 437-440.
- Robertson, L.J. 2007. The potential for marine bivalve shellfish to act as transmission vehicles for outbreaks of protozoan infections in humans: a review. *International Journal of Food Microbiology*, **120**: 201-216.
- Robertson, L.J. 2015. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis: a small parasite that makes a big splash. En: *Zoonoses - Infections Affecting Humans and Animals*. Sing, A. (Ed.). Springer, Heidelberg, pp. 803-819.
- Robertson, L.J., Forberg, T., Hermansen, L., Hammes, I.S. y Gjerde, B. 2007. *Giardia duodenalis* cysts isolated from wild moose and reindeer in Norway: genetic characterization by PCR-RFLP and sequence analysis at two genes. *Journal of Wildlife Diseases*, **43**: 576-585.
- Robertson, L.J., Björkman, C., Axén, C. y Fayer, R. 2014a. Cryptosporidiosis in farmed animals. En: *Cryptosporidium: parasite and disease*. Cacciò, S.M. y Widmer, G. (Eds.). Springer, Viena, pp. 149-235.
- Robertson, L.J., Utaaker, K.S., Goyal, K. y Sehgal, R. 2014b. Keeping parasitology under the One Health umbrella. *Trends in Parasitology*, **30**: 369-372.
- Robertson, L.J., Tysnes, K.R., Hanevik, K., Langeland, N., Mørch, K., Hausken, T. y Nygård, K. 2015. Dogs as the source of *Giardia* in Bergen in 2004 - barking up the wrong tree? *Tidsskr Nor Lægeforen*, **135**: 1718 - 1720.

- Robinson, G. y Chalmers, R.M. 2010.** The European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*), a source of zoonotic cryptosporidiosis. *Zoonoses and Public Health*, **57**: e1-e13.
- Robinson, G., Elwin, K. y Chalmers, R.M. 2008.** Unusual *Cryptosporidium* genotypes in human cases of diarrhea. *Emerging Infectious Diseases*, **14**: 1800-1802.
- Romanelli, C., Cooper, H.D. y de Souza Dias, B.F. 2014.** The integration of biodiversity into One Health. *Revue Scientifique et Technique - Office International des Epizooties*, **33**: 487-496.
- Rosales, M., Pérez Cordón, G., Sánchez Moreno, M., Marín Sánchez, C. y Mascaró, C. 2005.** Extracellular like-gregarine stages of *Cryptosporidium parvum*. *Acta Tropica*, **95**: 74-78.
- Rosenberg, D.M. y Resh, V.H. 1993.** Introduction to freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates. En: *Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates*. Rosenberg, D.M. y Resh, V.H. (Eds.). Chapman and Hall, Nueva York, pp. 1-9.
- Rosenthal, J. 2009.** Climate change and the geographic distribution of infectious diseases. *EcoHealth*, **6**: 489-495.
- Ryan, U. 2010.** *Cryptosporidium* in birds, fish and amphibians. *Experimental Parasitology*, **124**: 113-120.
- Ryan, U. y Xiao, L. 2007.** Birds. En: *Cryptosporidium and cryptosporidiosis*. Fayer, R. y Xiao, L. (Eds.). CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 395-418.
- Ryan, U. y Power, M. 2012.** *Cryptosporidium* species in Australian wildlife and domestic animals. *Parasitology*, **139**: 1673-1688.
- Ryan, U. y Cacciò, S.M. 2013.** Zoonotic potential of *Giardia*. *International Journal for Parasitology*, **43**: 943-956.
- Ryan, U. y Xiao, L. 2014.** Taxonomy and molecular taxonomy. En: *Cryptosporidium: parasite and disease*. Cacciò, S.M. y Widmer, G. (Eds.). Springer, Viena, pp. 3-41.
- Ryan, U. e Hijjawi, N. 2015.** New developments in *Cryptosporidium* research. *International Journal for Parasitology*, **45**: 367-373.
- Ryan, U., Monis, P., Enemark, H.L., Sulaiman, I., Samarasinghe, B., Read, C., Buddle, R., Robertson, I., Zhou, L., Thompson, R.C. y Xiao, L. 2004.** *Cryptosporidium suis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in pigs (*Sus scrofa*). *Journal of Parasitology*, **90**: 769-773.

- Ryan, U., Power, M. y Xiao, L. 2008. *Cryptosporidium fayeri* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from the Red Kangaroo (*Macropus rufus*). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, **55**: 22-26.
- Ryan, U., Fayer, R. y Xiao, L. 2014. *Cryptosporidium* species in humans and animals: current understanding and research needs. *Parasitology*, **141**: 1667-1685.
- Ryan, U., Paparini, A., Tong, K., Yang, R., Gibson-Kueh, S., O'Hara, A., Lymbery, A. y Xiao, L. 2015. *Cryptosporidium huwi* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the guppy (*Poecilia reticulata*). *Experimental Parasitology*, **150**: 31-35.
- Ryan, U., Paparini, A., Monis, P. e Hijjawi, N. 2016a. It's official - *Cryptosporidium* is a gregarine: what are the implications for the water industry? *Water Research*, **105**: 305-313.
- Ryan, U., Zahedi, A. y Paparini, A. 2016b. *Cryptosporidium* in humans and animals - a One Health approach to prophylaxis. *Parasite Immunology*, **38**: 535-547.
- Salzer, J.S., Rwego, I.B., Goldberg, T.L., Kuhlenschmidt, M.S. y Gillespie, T.R. 2007. *Giardia* sp. and *Cryptosporidium* sp. infections in primates in fragmented and undisturbed forest in western Uganda. *Journal of Parasitology*, **93**: 439-440.
- Sangster, L., Blake, D.P., Robinson, G., Hopkins, T.C., Sa, R.C.C., Cunningham, A.A., Chalmers, R.M. y Lawson, B. 2016. Detection and molecular characterisation of *Cryptosporidium parvum* in British European hedgehogs (*Erinaceus europaeus*). *Veterinary Parasitology*, **217**: 39-44.
- Santamarina-Fernández, J. 2005. Réptiles, aves e mamíferos dos ríos de Galiza. *ADEGA Cadernos*, **14**: 37-41.
- Santín, M. 2012. Clinical and subclinical infections with *Cryptosporidium* in animals. *New Zealand Veterinary Journal*, **61**: 1-10.
- Santín, M. y Trout, J.M. 2007. Cryptosporidiosis of companion animals. En: *Cryptosporidium and cryptosporidiosis*. Fayer, R. y Xiao, L. (Eds.). CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 437-449.
- Santín, M. y Trout, J.M. 2008. Livestock. En: *Cryptosporidium and cryptosporidiosis*. Fayer, R. y Xiao, L. (Eds.). CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 451-483.

- Santín, M. y Fayer, R. 2015.** *Enterocytozoon bienersi*, *Giardia* and *Cryptosporidium* infecting white-tailed deer. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, **62**: 34-43.
- Santín, M., Trout, J.M., Xiao, L.H., Zhou, L., Greiner, E. y Fayer, R. 2004.** Prevalence and age-related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves. *Veterinary Parasitology*, **122**: 103-117.
- Santín, M., Dixon, B.R. y Fayer, R. 2005.** Genetic characterization of *Cryptosporidium* isolates from ringed seals (*Phoca hispida*) in Northern Quebec, Canada. *Journal of Parasitology*, **91**: 712-716.
- Saunders, L. 2000.** Virchow's contributions to veterinary medicine: celebrated then, forgotten now. *Veterinary Pathology*, **37**: 199-207.
- Savioli, L., Smith, H. y Thompson, A. 2006.** *Giardia* and *Cryptosporidium* join the 'Neglected Diseases Initiative'. *Trends in Parasitology*, **22**: 203-208.
- Schwabe, C.W. 1964.** Veterinary medicine and human health. Williams and Wilkins, Baltimore, Maryland, 516 pp.
- Semenza, J.C. y Menne, B. 2009.** Climate change and infectious diseases in Europe. *Lancet Infectious Diseases*, **9**: 365-375.
- Sevá, A.d.P., Funada, M.R., Souza, S.d.O., Nava, A., Richtzenhain, L.J. y Soares, R.M. 2010.** Occurrence and molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. isolated from domestic animals in a rural area surrounding Atlantic dry forest fragments in Teodoro Sampaio municipality, State of São Paulo, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, **19**: 249-253.
- Sevá, A.d.P., Funada, M.R., Richtzenhain, L., Guimarães, M.B., Souza, S.d.O., Allegretti, L., Sinhorini, J.A., Duarte, V.V. y Soares, R.M. 2011.** Genotyping of *Cryptosporidium* spp. from free-living wild birds from Brazil. *Veterinary Parasitology*, **175**: 27-32.
- Slavin, D. 1955.** *Cryptosporidium meleagridis* (sp. nov.). *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics*, **65**: 262-266.
- Smith, H. 2007.** Diagnostics. En: *Cryptosporidium and cryptosporidiosis*. Fayer, R. y Xiao, L. (Eds.). CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 173-207.

- Smith, H. y Nichols, R.A. 2006. Zoonotic protozoa - food for thought. *Parassitologia*, **48**: 101-104.
- Smith, H.V., Nichols, R.A.B., Mallon, M., Macleod, A., Tait, A., Reilly, W.J., Browning, L.M., Gray, D., Reid, S.W.J. y Wastling, J.M. 2005. Natural *Cryptosporidium hominis* infections in Scottish cattle. *Veterinary Record*, **156**: 710-711.
- Smith, H.V., Cacciò, S.M., Tait, A., McLauchlin, J. y Thompson, R.C. 2006. Tools for investigating the environmental transmission of *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in humans. *Trends in Parasitology*, **22**: 160-167.
- Sociedad Española de Ornitología (SEO)/BirdLife. 2010. Estado de conservación de las aves en España en 2010. SEO/BirdLife, Madrid, 60 pp.
- Sociedad Gallega de Historia Natural (SGHN). 2011. Atlas dos anfibios e réptiles de Galicia. SGHN, Santiago de Compostela, 112 pp.
- Sociedad Gallega de Ornitología (SGO). 2015. O presente das aves ameazadas en Galicia. *Cerna*, **73**: 34-35.
- Soilán López, M. 2014. Criptosporidiosis en rumiantes domésticos de Galicia: análisis genotípico y subgenotípico. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela, 158 pp.
- Solarczyk, P., Majewska, A.C., Moskwa, B., Cabaj, W., Dabert, M. y Nowosad, P. 2012. Multilocus genotyping of *Giardia duodenalis* isolates from red deer (*Cervus elaphus*) and roe deer (*Capreolus capreolus*) from Poland. *Folia Parasitologica*, **59**: 237-240.
- Solórzano, M.R., Rodríguez, J.L., Iglesias, J., Pereiro, F.X. y Álvarez, F. 1988. Inventario dos peixes do litoral galego (Pisces: Cyclostomata, Chondrichthyes, Osteichthyes). *Cadernos da Área de Ciencias Biolóxicas. Inventarios*, **4**: 9-69.
- Soto, M. y Ruiz, I. 2005. Contaminación fluvial. *ADEGA Cadernos*, **15**: 17-37.
- Sprong, H., Cacciò, S.M. y van der Giessen, J.W. 2009. Identification of zoonotic genotypes of *Giardia duodenalis*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, **3**: e558.
- Stiles, C. 1932. Parasitological observations made in Orange county, Florida. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, **19**: 90.

- Stojecki, K., Sroka, J., Cacciò, S.M., Cencek, T., Dutkiewicz, J. y Kusyk, P. 2015. Prevalence and molecular typing of *Giardia duodenalis* in wildlife from eastern Poland. *Folia Parasitologica*, **62**: 042.
- Stott, R., May, E., Ramírez, E. y Warren, A. 2003. Predation of *Cryptosporidium* oocysts by protozoa and rotifers: implications for water quality and public health. *Water Science and Technology*, **47**: 77-83.
- Striepen, B. 2013. Parasitic infections: time to tackle cryptosporidiosis. *Nature*, **503**: 189-191.
- Sturdee, A.P., Chalmers, R.M. y Bull, S.A. 1999. Detection of *Cryptosporidium* oocysts in wild mammals of mainland Britain. *Veterinary Parasitology*, **80**: 273-280.
- Sweeny, J.P., Ryan, U.M., Robertson, I.D., Yang, R., Bell, K. y Jacobson, C. 2011. Longitudinal investigation of protozoan parasites in meat lamb farms in southern Western Australia. *Preventive Veterinary Medicine*, **101**: 192-203.
- Szostakowska, B., Kruminis-Lozowska, W., Racewicz, M., Knight, R., Tamang, L., Myjak, P. y Graczyk, T.K. 2004. *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* recovered from flies on a cattle farm and in a landfill. *Applied and Environmental Microbiology*, **70**: 3742-3744.
- Tataruch, F. y Kierdorf, H. 2003. Mammals as biomonitors. *Trace Metals and other Contaminants in the Environment*, **6**: 737-772.
- Thompson, R.C.A. 2004. The zoonotic significance and molecular epidemiology of *Giardia* and giardiasis. *Veterinary Parasitology*, **126**: 15-35.
- Thompson, R.C.A. 2011. *Giardia* infections. En: *Zoonoses*. Palmer, S.R., Soulsby, E.J., Torgerson, P. y Brown, D. (Eds.). Oxford University Press, Oxford, pp. 522-535.
- Thompson, R.C.A. 2013. Parasite zoonoses and wildlife: One Health, spillover and human activity. *International Journal for Parasitology*, **43**: 1079-1088.
- Thompson, R.C.A. y Smith, A. 2011. Zoonotic enteric protozoa. *Veterinary Parasitology*, **182**: 70-78.
- Thompson, R.C.A. y Monis, P. 2012. *Giardia* - from genome to proteome. *Advances in Parasitology*, **78**: 57-95.



- Thompson, R.C.A. y Ash, A. 2016. Molecular epidemiology of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections. *Infection, Genetics and Evolution*, **40**: 315-323.
- Thompson, R.C.A., Lymbery, A.J. y Meloni, B.P. 1990. Genetic variation in *Giardia* Kunstler, 1882: taxonomic and epidemiological significance. *Protozoological Abstracts*, **14**: 1-28.
- Thompson, R.C.A., Palmer, C.S. y O'Handley, R. 2008. The public health and clinical significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in domestic animals. *Veterinary Journal*, **177**: 18-25.
- Thompson, R.C.A., Kutz, S.J. y Smith, A. 2009. Parasite zoonoses and wildlife: emerging issues. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **6**: 678-693.
- Torres, J., Gracenea, M., Gómez, M.S., Arrizabalaga, A. y González-Moreno, O. 2000. The occurrence of *Cryptosporidium parvum* and *C. muris* in wild rodents and insectivores in Spain. *Veterinary Parasitology*, **92**: 253-260.
- Traub, R., Wade, S., Read, C., Thompson, A. y Mohammed, H. 2005. Molecular characterization of potentially zoonotic isolates of *Giardia duodenalis* in horses. *Veterinary Parasitology*, **130**: 317-321.
- Traversa, D., Otranto, D., Milillo, P., Latrofa, M.S., Giangaspero, A., Di Cesare, A. y Paoletti, B. 2012. *Giardia duodenalis* sub-Assemblage of animal and human origin in horses. *Infection, Genetics and Evolution*, **12**: 1642-1646.
- Trout, J.M., Walsh, E.J. y Fayer, R. 2002. Rotifers ingest *Giardia* cysts. *Journal of Parasitology*, **88**: 1038-1040.
- Trout, J.M., Santín, M. y Fayer, R. 2006. *Giardia* and *Cryptosporidium* species and genotypes in coyotes (*Canis latrans*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, **37**: 141-144.
- Tryland, I., Robertson, L., Blankenberg, A.G.B., Lindholm, M., Rohrlack, T. y Liltved, H. 2011. Impact of rainfall on microbial contamination of surface water. *International Journal of Climate Change Strategies and Management*, **3**: 361-373.
- Tyzzer, E.E. 1907. A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse. *Experimental Biology and Medicine*, **5**: 12-13.

- Tyzzar, E.E. 1910.** An extracellular Coccidium, *Cryptosporidium muris* (gen. et sp. nov.), of the gastric glands of the common mouse. *Journal of Medical Research*, **23**: 487-510.
- Tyzzar, E.E. 1912.** *Cryptosporidium parvum* (sp. nov.), a coccidium found in the small intestine of the common mouse. *Archiv der Protistenkunde*, **26**: 394-412.
- Tzipori, S. y Widmer, G. 2000.** The biology of *Cryptosporidium*. *Contributions to Microbiology*, **6**: 1-32.
- Upton, S.J. y Zien, C.A. 1997.** Description of a *Giardia varani*-like flagellate from a water monitor, *Varanus salvator*, from Malaysia. *Journal of Parasitology*, **83**: 970-971.
- Van Bresse, M.F., Raga, J.A., Di Guardo, G., Jepson, P.D., Duignan, P.J., Siebert, U., Barrett, T., Santos, M.C.D., Moreno, I.B., Siciliano, S., Aguilar, A. y Van Waerebeek, K. 2009.** Emerging infectious diseases in cetaceans worldwide and the possible role of environmental stressors. *Diseases of Aquatic Organisms*, **86**: 143-157.
- van Zeeland, Y.R.A., Schoemaker, N.J., Kik, M.J.L. y van der Giessen, J.W.B. 2008.** Upper respiratory tract infection caused by *Cryptosporidium baileyi* in three mixed-bred falcons (*Falco rusticolus* x *Falco cherrug*). *Avian Diseases*, **52**: 357-363.
- Vander Wal, E., Garant, D., Calmé, S., Chapman, C.A., Festa-Bianchet, M., Millien, V., Rioux-Paquette, S. y Pelletier, F. 2014.** Applying evolutionary concepts to wildlife disease ecology and management. *Evolutionary Applications*, **7**: 856-868.
- Vetterling, J.M., Jervis, H.R., Merrill, T.G. y Sprinz, H. 1971.** *Cryptosporidium wrairi* sp. n. from the guinea pig *Cavia porcellus*, with an emendation of the genus. *Journal of Protozoology*, **18**: 243-247.
- Villacorta, I., Ares-Mazás, E. y Lorenzo, M.J. 1991.** *Cryptosporidium parvum* in cattle, sheep and pigs in Galicia (N.W. Spain). *Veterinary Parasitology*, **38**: 249-252.
- Vítovec, J., Hamadejová, K., Landová, L., Kváč, M., Květoňová, D. y Sak, B. 2006.** Prevalence and pathogenicity of *Cryptosporidium suis* in pre- and post-weaned pigs. *Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, **53**: 239-243.
- Wang, L., Xue, X., Li, J., Zhou, Q., Yu, Y. y Du, A. 2014a.** Cryptosporidiosis in broiler chickens in Zhejiang Province, China: molecular characterization of oocysts detected in fecal samples. *Parasite*, **21**: 36.

- Wang, R., Zhang, L., Feng, Y., Ning, C., Jian, F., Xiao, L., Zhao, J. y Wang, Y. 2008. Molecular characterization of a new genotype of *Cryptosporidium* from American minks (*Mustela vison*) in China. *Veterinary Parasitology*, **154**: 162-166.
- Wang, R., Wang, F., Zhao, J., Qi, M., Ning, C., Zhang, L. y Xiao, L. 2012. *Cryptosporidium* spp. in quails (*Coturnix coturnix japonica*) in Henan, China: molecular characterization and public health significance. *Veterinary Parasitology*, **187**: 534-537.
- Wang, Y., Yang, W., Cama, V., Wang, L., Cabrera, L., Ortega, Y., Bern, C., Feng, Y., Gilman, R. y Xiao, L. 2014b. Population genetics of *Cryptosporidium meleagridis* in humans and birds: evidence for cross-species transmission. *International Journal for Parasitology*, **44**: 515-521.
- Widerström, M., Schönning, C., Lilja, M., Lebbad, M., Ljung, T., Allestam, G., Ferm, M., Björkholm, B., Hansen, A., Hiltula, J., Långmark, J., Löfdahl, M., Omberg, M., Reuterwall, C., Samuelsson, E., Widgren, K., Wallensten, A. y Lindh, J. 2014. Large outbreak of *Cryptosporidium hominis* infection transmitted through the public water supply, Sweden. *Emerging Infectious Diseases*, **20**: 581-589.
- Wilkes, G., Edge, T., Gannon, V., Jokinen, C., Lyautey, E., Medeiros, D., Neumann, N., Ruecker, N., Topp, E. y Lapen, D.R. 2009. Seasonal relationships among indicator bacteria, pathogenic bacteria, *Cryptosporidium* oocysts, *Giardia* cysts, and hydrological indices for surface waters within an agricultural landscape. *Water Research*, **43**: 2209-2223.
- Wilkes, G., Edge, T.A., Gannon, V.P.J., Jokinen, C., Lyautey, E., Neumann, N.F., Ruecker, N.J., Scott, A., Sunohara, M. y Topp, E. 2011. Associations among pathogenic bacteria, parasites, and environmental and land use factors in multiple mixed-use watersheds. *Water Research*, **45**: 5807-5825.
- Wolfe, N.D., Dunavan, C.P. y Diamond, J. 2007. Origins of major human infectious diseases. *Nature*, **447**: 279-283.
- Xiao, L. 2010. Molecular epidemiology of cryptosporidiosis: an update. *Experimental Parasitology*, **124**: 80-89.
- Xiao, L. y Fayer, R. 2008. Molecular characterisation of species and genotypes of *Cryptosporidium* and *Giardia* and assessment of zoonotic transmission. *International Journal for Parasitology*, **38**: 1239-1255.

- Xiao, L. y Feng, Y. 2008. Zoonotic cryptosporidiosis. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, **52**: 309-323.
- Xiao, L., Ryan, U.M., Graczyk, T.K., Limor, J., Li, L., Kombert, M., Junge, R., Sulaiman, I.M., Zhou, L., Arrowood, M.J., Koudela, B., Modrý, D. y Lal, A.A. 2004. Genetic diversity of *Cryptosporidium* spp. in captive reptiles. *Applied and Environmental Microbiology*, **70**: 891-899.
- Xunta de Galicia. 2016. Dirección Xeral de Conservación da Natureza. Disponible en: [http://cmaot.xunta.gal/organizacion/c/CMAOT\\_DX\\_Conservacion\\_Natureza](http://cmaot.xunta.gal/organizacion/c/CMAOT_DX_Conservacion_Natureza), último acceso 15 de septiembre de 2016.
- Yang, R., Reid, A., Lymbery, A. y Ryan, U. 2010. Identification of zoonotic *Giardia* genotypes in fish. *International Journal for Parasitology*, **40**: 779-785.
- Young, M.R., Cosgrove, P.J. y Hastie, L.C. 2001. The extent of, and causes for, the decline of a highly threatened naiad: *Margaritifera margaritifera*. En: *Ecology and evolution of the freshwater mussels Unionoida*. Bauer, G. y Wächtler, K. (Eds.). Springer, Heidelberg, pp. 337-357.
- Zhang, W., Shen, Y., Wang, R., Liu, A., Ling, H., Li, Y., Cao, J., Zhang, X., Shu, J. y Zhang, L. 2012. *Cryptosporidium cuniculus* and *Giardia duodenalis* in rabbits: Genetic diversity and possible zoonotic transmission. *PLoS ONE*, **7**: e31262.
- Zhao, Z., Dong, H., Wang, R., Zhao, W., Chen, G., Li, S., Qi, M., Zhang, S., Jian, F., Zhao, J., Zhang, L., Wang, H. y Liu, A. 2014. Genotyping and subtyping *Cryptosporidium parvum* and *Giardia duodenalis* carried by flies on dairy farms in Henan, China. *Parasites and Vectors*, **7**: 190-195.
- Ziegler, P.E., Wade, S.E., Schaaf, S.L., Chang, Y.F. y Mohammed, H.O. 2007a. *Cryptosporidium* spp. from small mammals in the New York City watershed. *Journal of Wildlife Diseases*, **43**: 586-596.
- Ziegler, P.E., Wade, S.E., Schaaf, S.L., Stern, D.A., Nadareski, C.A. y Mohammed, H.O. 2007b. Prevalence of *Cryptosporidium* species in wildlife populations within a watershed landscape in southeastern New York State. *Veterinary Parasitology*, **147**: 176-184.

- Zinsstag, J., Schelling, E., Waltner-Toews, D. y Tanner, M. 2011. From “one medicine” to “one health” and systemic approaches to health and well-being. *Preventive Veterinary Medicine*, **101**: 148-156.
- Zintl, A., Neville, D., Maguire, D., Fanning, S., Mulcahy, G., Smith, H.V. y De Waal, T. 2007. Prevalence of *Cryptosporidium* species in intensively farmed pigs in Ireland. *Parasitology*, **134**: 1575-1582.
- Zylan, K., Bailey, T., Smith, H.V., Silvanose, C., Kinne, J., Schuster, R.K. y Hyland, K. 2008. An outbreak of cryptosporidiosis in a collection of Stone curlews (*Burhinus oedicnemus*) in Dubai. *Avian Pathology*, **37**: 521-526.







Anexos





## DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES

Las personas coautoras de los trabajos científicos que constituyen el cuerpo de la presente Tesis Doctoral declaran que no existe ningún conflicto de intereses relacionado con los manuscritos y autorizan la presentación de la Tesis Doctoral como modalidad de compendio de publicaciones.

**Reboredo-Fernández, A., Prado-Merini, Ó., García-Bernadal, T., Gómez-Couso, H., Ares-Mazás, E., 2014.** Benthic macroinvertebrate communities as aquatic bioindicators of contamination by *Giardia* and *Cryptosporidium*. *Parasitology Research* **113**: 1625-1628.

**Reboredo-Fernández, A., Gómez-Couso, H., Martínez-Cedeira, J.A., Cacciò, S.M., Ares-Mazás, E., 2014.** Detection and molecular characterization of *Giardia* and *Cryptosporidium* in common dolphins (*Delphinus delphis*) stranded along the Galician coast (Northwest Spain). *Veterinary Parasitology* **202**: 132-137.

**Reboredo-Fernández, A., Ares-Mazás, E., Martínez-Cedeira, J.A., Romero-Suances, R., Cacciò, S.M., Gómez-Couso, H., 2015.** *Giardia* and *Cryptosporidium* in cetaceans on the European Atlantic coast. *Parasitology Research* **114**: 693-698.

**Reboredo-Fernández, A., Ares-Mazás, E., Cacciò, S.M., Gómez-Couso, H., 2015.** Occurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in wild birds in Galicia (Northwest Spain). *Parasitology* **142**: 917-925.

**Reboredo-Fernández, A., Ares-Mazás, E., Galán, P., Cacciò, S.M., Gómez-Couso, H. 2016.** Detection of zoonotic and livestock-specific assemblages of *Giardia duodenalis* in free-living wild lizards. Sometido



E. Ares-Mazás



H. Gómez-Couso



S.M. Cacciò



P. Galán



T. García Bernadal



J.A. Martínez-Cedeira



Ó. Prado-Merini



R. Romero-Suances



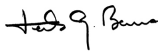
## DECLARACIÓN DE RENUNCIA

Las personas coautoras no doctoras de los trabajos científicos que constituyen el cuerpo de la presente Tesis Doctoral declaran su renuncia a la presentación de dichos trabajos como parte de otra Tesis Doctoral.

**Reboredo-Fernández, A., Prado-Merini, Ó., García-Bernadal, T., Gómez-Couso, H., Ares-Mazás, E., 2014.** Benthic macroinvertebrate communities as aquatic bioindicators of contamination by *Giardia* and *Cryptosporidium*. *Parasitology Research* **113**: 1625-1628.

**Reboredo-Fernández, A., Gómez-Couso, H., Martínez-Cedeira, J.A., Cacciò, S.M., Ares-Mazás, E., 2014.** Detection and molecular characterization of *Giardia* and *Cryptosporidium* in common dolphins (*Delphinus delphis*) stranded along the Galician coast (Northwest Spain). *Veterinary Parasitology* **202**: 132-137.

**Reboredo-Fernández, A., Ares-Mazás, E., Martínez-Cedeira, J.A., Romero-Suances, R., Cacciò, S.M., Gómez-Couso, H., 2015.** *Giardia* and *Cryptosporidium* in cetaceans on the European Atlantic coast. *Parasitology Research* **114**: 693-698.



T. García Bernadal



J.A. Martínez-Cedeira



Ó. Prado-Merini



